

Einfluß der Stickstoffernährung auf den endogenen Cytokininspiegel bei **SOLANUM TUBEROSUM L. VAR. OSTARA**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Biologie der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dipl.-Biol. Burkhard Sattelmacher

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546604_0044

Einfluß der Stickstoffernährung auf den endogenen Cytokininspiegel bei **SOLANUM TUBEROSUM L. VAR. OSTARA**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
des Fachbereichs Biologie der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dipl.-Biol. Burkhard Sattelmacher

1. Referent: Prof. Dr. H. Marschner

2. Referent: Prof. Dr. H. Clauss

Tag der mündlichen Prüfung: 28.10.76



Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	6
1. Knolleninduktion: Historischer Überblick	6
2. Cytokinine und Knolleninduktion	9
3. N-Ernährung und Knolleninduktion	10
4. Knolleninduktion und "physiologisches Alter"	12
5. Zielsetzung - Fragestellung	13
II. Material und Methoden	14
1. Anzucht der Pflanzen	14
2. Ringelung	16
3. Exsudatgewinnung	17
4. Ernte der Pflanzen	18
5. Extraktion und Reinigung der Cytokinine	18
6. Vergleich zweier Extraktionsmethoden	19
7. Reinigung des Kationenaustauscherharzes	19
8. Dünnschichtchromatographie	22
9. Weitere Auftrennung der Cytokinine	22
10. Hochdruckflüssigkeitschromatographie	23
11. Durchführung der Biotests	23
a. Chlorophyllbildungstest	23
b. Soja-Kallustest	25
12. Vergleich des Chlorophyllbildungstests mit dem Soja-Kallustest	26
13. Auswertung des Chlorophyllbildungstests	28
14. Absicherung der Signifikanz der biologischen Aktivität	29

III. Ergebnisse	33
1. Der Chlorophyllbildungstest	33
2. Cytokininbestimmungen	38
2.1 Einige Anmerkungen zu Konzentrationsangaben	38
2.2 Vorversuche	40
a. Ermittlung der benötigten Menge an Pflanzen- substanz	40
b. Ermittlung der Wiederfindungsrate	40
c. Einfluß des Ausschüttelns mit Äther auf die im Biotest nachweisbare Cytokininaktivität	42
d. Butanol-unlösliche Cytokinine in Extrakten aus Kartoffelpflanzen	43
e. Empfindlichkeit des Chlorophyllbildungstests gegenüber verschiedenen Cytokinin	45
2.3 Einfluß der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität nicht-induzierter Kartoffelpflanzen	45
a. Auswirkung unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in Sproß und Wurzel	45
b. Auswirkung unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität im Exsudat	50
2.4 Einfluß der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in Kartoffelpflanzen vor und nach der Knollenin- duktion	53
a. Auswirkung unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität im Sproß	55
b. Vergleich von Butanol- und H ₂ O-löslichen Cyto- kininen in Sprossen vor und nach der Knollen- induktion	56
c. Auswirkung der unterschiedlichen N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in den Wurzeln	56
d. Veränderungen im Verhältnis der Cytokinin- aktivität von Sproß und Wurzel als Folge der Knolleninduktion	58
e. Auswirkung der unterschiedlichen N-Ernährung auf die Cytokininaktivität im Exsudat	59
f. Einfluß von N-Entzug vor und nach der Knollen- induktion auf die Cytokininaktivität in Sproß, Exsudat und Wurzeln	63
g. Veränderungen der Cytokininaktivität in Stolonen und Knollen vor und nach der Knolleninduktion	63
h. Cytokininpektrum in Stolonen bzw. Knollen vor und nach der Knolleninduktion	66
3. Versuche zur Lokalisierung der Reizaufnahme des Faktors N-Ernährung	70
3.1 Problemstellung	70

	Seite
3.2 Vorversuche	71
3.3 Hauptversuch	75
4. Kinetinapplikation	80
5. Versuche zur Identifizierung der in <i>Solanum tuberosum</i> L. var. <i>Ostara</i> vorkommenden Cytokinine	83
IV. Diskussion	88
1. Stickstoffernährung und Cytokininaktivität	88
2. Stickstoffernährung und Knolleninduktion	90
3. Cytokinine und Knolleninduktion	102
V. Zusammenfassung	108
VI. Literaturverzeichnis	111

I. Einleitung

1. Knolleninduktion: Historischer Überblick

Die Kartoffel zählt zu den wichtigsten pflanzlichen Proteinlieferanten, obwohl nur etwa 2 % des Frischgewichts und 5-7 % des Trockengewichts auf Rohproteine entfallen. Der für pflanzliche Proteine hohe Gehalt an essentiellen Aminosäuren macht jedoch die biologische Wertigkeit des Kartoffeleiweißes der des Hühnereis oder des Fleisches vergleichbar.

Knolleninduktion und Knollenwachstum, die beiden ertragsbestimmenden Faktoren, werden in einem genetisch fixierten Rahmen durch eine Reihe exogener Einflüsse wie Tageslänge, Temperatur oder Stickstoffernährung kontrolliert. Eine Steigerung des Ertrages ist auf zwei Wegen möglich: zum einen durch eine Optimierung der Umweltbedingungen, zum anderen durch die Selektion neuer Genotypen. Bisher ist man hierbei jedoch noch weitgehend auf empirische Daten angewiesen, da über die physiologischen Vorgänge bei der Knolleninduktion und der Stoffeinlagerung in dieses Speicherorgan noch weitgehende Unklarheiten herrschen. Durch die Erweiterung unseres Wissens über die hierbei in der Pflanze wirkenden Regelmechanismen wird in Zukunft auf dem Wege über noch gezieltere Anbau- und Züchtungsmaßnahmen auf eine verbesserte Assimilat- und Proteineinlagerung in die sich entwickelnde Knolle hingearbeitet werden können.

Daß die Untersuchung der Stoffeinlagerungsvorgänge in vegetative Speicherorgane wie die Kartoffelknolle von weitgehender Bedeutung ist, ergibt sich aus der Tatsache, daß hier die genetische Fixierung bezüglich der maximalen Größe recht gering ist und andere Faktoren die Wachstumsrate und die endgültige Größe bestimmen müssen. Es überrascht daher nicht, daß die Steuerung der Einlagerungsvorgänge in die Kartoffelknolle bereits frühzeitig starke Beachtung fand.

Um das Phänomen der Knolleninduktion zu erklären, wurden eine Reihe von Theorien aufgestellt; so leitete Bernhard (1901) aus

seinen Untersuchungen über den Pilzbefall bei Kulturpflanzen ab, die Knolleninduktion sei eine Folge einer Erhöhung des osmotischen Wertes der Stolonzellen infolge einer Infektion derselben mit endophytischen Pilzen. Diese Theorie konnte dadurch widerlegt werden, daß auch in Sterilkultur eine Knolleninduktion erreicht werden konnte (Gregory, 1956). Werner (1934) vermutete als Ursache für die Induktion eine Anreicherung von Assimilaten in den Stolonspitzen; er nahm an, daß sie nur unter solchen Bedingungen erfolgen kann, unter denen mehr Assimilate produziert und angereichert werden, als durch Wachstum und Respiration verbraucht werden. Diese von Headford (1962) und Miltrope (1962) erneut aufgegriffene Theorie ist zwar bis heute nicht widerlegt, es gibt jedoch eine Reihe von Tatsachen, die sie als zumindest recht unwahrscheinlich erscheinen lassen.

In diesem Zusammenhang sei nur auf die Ergebnisse von Gregory (1956) verwiesen, der durch Pfropfung von induzierten Sprossen auf nicht induzierte Unterlagen bei diesen eine Induktion hervorrufen konnte.

Bereits 1936 vermuteten Zimmermann and Hitchcock die Existenz eines hormonähnlichen Stoffes, der - in den Sproßspitzen gebildet und basipetal transportiert - die Knolleninduktion in den Stolonen kontrolliert. Gregory (1956) konnte bei seinen Experimenten mit Kartoffeln der Sorte "Kennebec" eine Reihe von Hinweisen sammeln, die die Annahme der Existenz eines die Knolleninduktion kontrollierenden Hormons stützte. Unter anderem gelang ihm die bereits oben erwähnte Übertragung dieses Stimulus durch Pfropfung. Chapman (1958) konnte zeigen, daß dieser Stimulus vor allen in den jüngeren Blättern synthetisiert wird.

Wenn auch die Existenz eines spezifischen, die Knolleninduktion kontrollierenden Hormons nicht ausgeschlossen werden kann, erscheint sie doch angesichts der Vielfalt der diesen Prozess kontrollierenden Faktoren eher unwahrscheinlich, da z.B. Hammes and Beyers (1973) zeigen konnten, daß dieses Hormon auch unter nicht-induktiven Bedingungen in der Pflanze in ausreichender Konzentration vorliegen müßte: Durch Entfernen des Apikalmeristems und der jüngsten Blätter kann nämlich auch unter Langtagbedingungen eine Knolleninduktion

hervorgerufen werden.

Erstmals vermutete Okazawa (1960) und Okazawa and Chapman (1962), daß der Prozeß der Knolleninduktion nicht unter der Kontrolle eines einzelnen Hormons steht, sondern daß das Verhältnis der verschiedenen endogenen Phytohormone zueinander diesen Prozeß steuert. Für diese Annahme sprechen in der Tat eine Reihe von Ergebnissen. So konnten Okazawa und Chapman (1962) zeigen, daß es zumindest noch eine die Induktion verhindernde Substanz geben muß. Setzten sie nämlich Pflanzen, bei denen durch Entfernen des Apikalmeristems zwei Sproßachsen vorhanden waren, eine derselben Langtagbedingungen aus, wohingegen die andere im Kurztag verblieb, so wurde die Knolleninduktion gegenüber den Kontrollpflanzen, die ausschließlich im Kurztag angezogen wurden, deutlich verzögert. Diese Verzögerung trat jedoch nicht auf, wenn der unter Langtagbedingungen wachsende Sproß geringelt und damit der Phloemtransport unterbunden wurde.

Hammes (1971) und Krauß und Marschner (1976) konnten in Applikationsversuchen zeigen, daß es sich bei den die Induktion verhindernden Substanzen wahrscheinlich um Gibberellin-ähnliche Stoffe handelt. So konnte beispielsweise durch Applikation von GA_3 auf wachsende Knollen deren "Durchwachsen" induziert werden (Krauß und Marschner, 1976), und Hammes and Beyers (1973) leiteten aus ihren Untersuchungen ab: "It was concluded that a balance between endogenous gibberellins and other substances (endogenous inhibitors and/or a specific tuber forming substance) controls tuberization."

Unterstützung erhält diese Vermutung durch Ergebnisse von Okazawa (1967) und Smith and Rappaport (1969), wonach der Gibberellin-Gehalt mit Eintritt der Induktion stark abnimmt, wohingegen der Inhibitorgehalt zunimmt.

Heute ist weitgehend akzeptiert, daß die Knolleninduktion durch den endogenen Phytohormonspiegel kontrolliert wird. Auf ihn wirken exogene Faktoren wie Tageslänge, Temperatur oder Stickstoffernährung ein, und zwar derart, daß Veränderungen dieser Faktoren auch Veränderungen des Phytohormonspiegels hervorrufen (Okazawa, 1967, 1969;

Railton and Waring, 1973; Langile and Forsline, 1974). Je nachdem, in welche Richtung dieser Veränderungen ablaufen, tritt die Induktion ein, oder sie wird verhindert.

Daß sich auch verschiedene Genotypen im endogenen Phytohormonmuster unterscheiden, konnten bei Kartoffeln Okazawa (1967)* für Gibberelline und Auxine, sowie Anstis and Northcote (1975) für Cytokinine zeigen. Vermutlich lassen sich hierdurch die unterschiedlichen Reaktionen verschiedener Genotypen auf exogene Faktoren erklären.

2. Cytokinine und Knolleninduktion

Seit der Entdeckung des Kinetins (Miller et al., 1955) sind zahlreiche Wirkungen nicht nur dieser Verbindung, sondern der gesamten Pflanzenhormongruppe, der Cytokinine, bekannt geworden.

Die Förderung der Zellteilung in pflanzlichen Geweben hatte zur Entdeckung und zur Namensgebung beigetragen (Cytokinese = Zellteilung). Eine zweite Kinetinwirkung ist die Hemmung der Seneszenz. Richmond and Lang (1957) stellten fest, daß Kinetin die Vergilbung isolierter Blätter von *Xanthium* verlangsamte und den Proteinabbau verzögerte. Diese Resultate konnten von Mothes (1966) bestätigt werden.

Eine weitere Eigenschaft der Cytokinine, die Attraktionswirkung, wurde von Mothes et al. (1959, 1961) beschrieben; Applikation von Cytokinin auf Blattbezirke oder auf eine Blatthälfte führen zu einer Akkumulation von anorganischen Ionen und organischen Verbindungen wie Zuckern und Aminosäuren am Applikationsort. Diese Substanzen werden dabei gerichtet und auch gegen einen Konzentrationsgradienten transportiert (Engelbrecht, 1961; Allinger et al., 1969). Gleichzeitig wird der im natürlichen Alterungsprozeß ablaufende Abtransport dieser Stoffe aus den älteren in die jüngeren Blätter verhindert (Allinger, 1969). Diese Wirkung der Cytokinine bleibt auf die Applikationsstelle oder deren engste Umgebung beschränkt. Cytokinine sind also in der Lage, neue "Sinks" zu schaffen bzw. bereits vorhandene zu verstärken (Bräutigam und Müller, 1975 a, b, c).

Wenn auch bisher die Ergebnisse vorwiegend von älteren Blättern stammen, so lag es doch nahe, ähnliche Wirkungen auch bei wachsenden Kartoffelknollen anzunehmen, zumal die Attraktionswirkung der Cytokinine auch bei wachsenden Früchten beobachtet werden konnte (Dass and Randhawa, 1968; Weaver et al., 1969). So schien es also durchaus möglich, daß die Cytokinine auch für Knolleninduktion und Knollenwachstum von Bedeutung sind, und zwar zum einen durch die Induktion eines neuen "Sink", der jungen Knolle, zum anderen durch ihren Einfluß auf den Alterungsprozeß, der die Dauer der Synthesefähigkeit und der Einlagerungsvorgänge bestimmt und damit die Knollengröße mitreguliert.

Als Palmer and Smith (1969) bei in-vitro Versuchen durch Applikation verschiedener Cytokinine an isolierten Stolonen Knollen induzieren konnten, schrieb man den Cytokinin eine Schlüsselrolle in diesem Prozeß zu. Gestützt wurde diese Annahme durch Ergebnisse von Okazawa (1969), der in Feldversuchen zeigen konnte, daß mit Induktion und Knollenwachstum ein sehr starker Anstieg der Cytokininaktivität in den wachsenden Knollen einhergeht, und durch Ergebnisse von Palmer and Barker (1972), die durch Cytokininapplikation in isolierten Stolonen eine Veränderung der Aktivität bei Enzymen des Kohlenhydratstoffwechsels hervorrufen konnten.

Die hier angeführten Arbeiten beschäftigen sich nahezu ausschließlich mit der Cytokininaktivität in den Stolonen bzw. in der jungen Knolle. Um jedoch Rückschlüsse auf die Rolle der Cytokinine im Prozeß der Knolleninduktion und des Knollenwachstums ziehen zu können, bedarf es gesicherter Daten auch über die Cytokininaktivität in den übrigen Organen der Pflanze während des Ablaufs dieser Prozesse - dies um so mehr, als gegenwärtig als Hauptbildungsstätte der Cytokinine nicht die junge Knolle, sondern immer noch die Wurzelmeristeme betrachtet werden müssen (Kende, 1965; Michael et al., 1970; Skene, 1972).

3. N-Ernährung und Knolleninduktion

Die Knolleninduktion und das Knollenwachstum werden, wie bereits erwähnt, unter anderem auch durch die N-Ernährung beeinflusst. Während

hohe N-Gaben in Feldversuchen die Knolleninduktion verzögern (Simpson, 1962), wirken N-Entzug (Burghausen, 1963) oder eine aufgrund niedriger Temperaturen gehemmte N-Aufnahme (Burt, 1964) fördernd. In Wasserkulturversuchen kann durch kontinuierliches N-Angebot (sowohl bei NO_3^- als auch bei NH_4^+ als N-Quelle) die Knolleninduktion vollständig verhindert werden (Krauß und Marschner, 1971, 1976). Gerade diese letzteren Arbeiten zeigen, daß die N-Ernährung die Knolleninduktion in einem Maße kontrolliert, wie dies von keinem anderen exogenen Faktor bekannt ist. So gelingt es, bei bereits induzierten Stolonen durch N-Zufuhr das "Durchwachsen" der jungen Knollen zu induzieren, und durch erneuten N-Entzug die Bildung einer zweiten Knolle hervorzurufen; dieser Vorgang ließ sich ein drittes Mal wiederholen (Krauß und Marschner, 1976).

Es ist bekannt, daß die N-Ernährung bei höheren Pflanzen auch den Phytohormonspiegel beeinflußt, z.B. die Cytokininbildung in den Wurzeln (Wagner und Michael, 1969, 1971). Die höchste Produktion von Cytokinin findet zum Zeitpunkt des stärksten Wurzelwachstums statt. Eine Hemmung desselben, etwa durch N-Mangel, ist stets mit einem Absinken der Cytokininproduktion in den Wurzeln verbunden (Wagner und Michael, 1969; Banko and Boe, 1975).

Bei der Untersuchung des Einflusses unterschiedlicher N-Ernährung auf den endogenen Phytohormonspiegel bei *Solanum tuberosum* L. tritt hingegen die Schwierigkeit auf, daß sich hier zwei Reaktionen der Pflanze auf N-Entzug überlagern. Die Kartoffel reagiert auf N-Entzug mit den auch bei anderen Pflanzenarten zu beobachtenden Symptomen: Reduktion des Sproßwachstums, beschleunigte Seneszenz der älteren Blätter sowie Verschiebung des Verhältnisses von Sproß zu Wurzel zugunsten der Wurzel; gleichzeitig kommt es neben Veränderungen im Gehalt z.B. an Kohlenhydraten und N-Verbindungen auch in den verschiedenen Pflanzenorganen zu ausgeprägten Veränderungen im Phytohormonspiegel z.B. bei Cytokinin (Wagner und Michael, 1970, ABA (Rajagopal and Rao, 1974) und GAS (Rajagopal and Rao, 1972, 1974).

Bei der Kartoffelpflanze kommt jedoch neben diesen durch die N-Ernährung ausgelösten Veränderungen auch noch eine weitere hinzu: die Knolleninduktion. Hiermit tritt die Pflanze aus ihrer vegetativen in ihre

reproduktive Entwicklungsphase. Wie verschiedene Autoren zeigen konnten, geht mit der Knolleninduktion auch eine Veränderung des endogenen Phytohormonspiegels einher (Okazawa, 1967, 1969; Langile and Forsline, 1974).

Für die Erforschung kausaler Zusammenhänge zwischen N-Wirkung, Cytokininaktivität in den unterschiedlichen Pflanzenteilen und Knolleninduktion ist es daher unbedingt notwendig, die durch N-Entzug direkt bewirkten Veränderungen der Cytokininaktivität von den möglicherweise durch die Knolleninduktion selbst ausgelösten Veränderungen zu trennen. Erschwerend kommt hinzu, daß sich die Knolleninduktion visuell erst dann feststellen läßt, wenn eine Verdickung im subapikalen Bereich der Stolone auftritt. Es ist jedoch zu vermuten, daß die eigentlichen, die Induktion kontrollierenden endogenen Veränderungen des Phytohormonspiegels zu diesem Zeitpunkt bereits stattgefunden haben (Smith and Palmer, 1970).

4. Knolleninduktion und "physiologisches Alter"

Die Knolleninduktion bedeutet das Ende der vegetativen und den Beginn der reproduktiven Entwicklungsphase. Ihr Zeitpunkt ist weniger vom absoluten als vielmehr vom "physiologischen Alter" der untersuchten Pflanze abhängig. Der Begriff "physiologisches Alter" läßt sich nur schwer definieren, da er offensichtlich von einer Reihe Faktoren abhängig ist, die sich in drei Komplexe einteilen lassen:

1. den Umwelteinflüssen auf die Pflanze
 2. Alter und Lagerbedingungen der Mutterknollen (Toosey, 1964)
 3. Wachstumsbedingungen der vorhergehenden Generation (Carls, 1976).
- Wenn auch eine befriedigende Definition noch aussteht, läßt sich doch feststellen, daß physiologisch ältere Pflanzen zu einer schnelleren und gleichmäßigeren Knolleninduktion neigen als physiologisch junge Pflanzen; mit zunehmendem physiologischen Alter wird somit die vegetative Phase verkürzt und kann im Extremfall gegen Null gehen: Knollen, die lange und unter schlechten Bedingungen gelagert wurden, tendieren zur sofortigen Knolleninduktion, ohne vorher gekeimt zu haben; sie zeigen "Knöllchensucht" (Toosey, 1964; Irtani, 1968).

5. Zielsetzung - Fragestellung

Die bisher bei anderen Pflanzenarten vorliegenden Ergebnisse über die N-Wirkung auf den Cytokininspiegel einerseits und die über die N-Ernährung bei Kartoffelpflanzen regulierbare Knolleninduktion andererseits, ließen es als lohnendes Ziel erscheinen, unter kontrollierten Umweltbedingungen in Wasserkulturversuchen den Einfluß der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in den verschiedenen Organen von Kartoffelpflanzen zu untersuchen, um festzustellen, ob die durch die N-Ernährung regulierbare Knolleninduktion in kausalem Zusammenhang mit Veränderungen des Cytokininspiegels steht.

In Ergänzung zu diesen Vegetationsversuchen mit unterschiedlichem N-Angebot über die Wurzeln, wurden auch noch Applikationsversuche mit Kinetin und N über das Blatt sowie Ringelungsversuche durchgeführt, um zusätzliche Informationen über den Wirkungsmechanismus der N-Ernährung auf die Knolleninduktion zu erhalten.

II. Material und Methoden

1. Anzucht der Pflanzen

Die "Keimung" der Kartoffelpflanzen (*Solanum Tuberosum* L. var. *Ostara*)* erfolgte im Licht in einem Gemisch aus Quarzsand und gedämpfter Erde (1:1), das mit Leitungswasser feucht gehalten wurde. Nachdem die Triebe eine Länge von ca. 15 cm erreicht hatten, erfolgte die Überführung in Wasserkultur. Hierzu wurden die jungen Pflanzen samt Knollen mit Hilfe eines Wasserstrahls aus dem Quarzsand/Boden-Gemisch herausgewaschen, um die Wurzeln möglichst wenig zu beschädigen; nach 14 Tagen Wachstum in Wasserkultur wurden die Mutterknollen entfernt.

Als Gefäße für die Wasserkultur dienten 5l-Eimer mit belüfteter Nährlösung. Zur Vereinfachung der Versuchsdurchführung tauchte der untere Teil des Sprosses in die Nährlösung, um später eine ausreichende Ca-Versorgung der wachsenden Stolonen und Knollen zu gewährleisten. In früheren Untersuchungen (Krauß und Marschner, 1975) hatte sich herausgestellt, daß es bei einem ausschließlichen Ca-Angebot über die Wurzel zu Ca-Mangel an den Stolonen und Knollen kommt. Die Gefäße mit der Nährlösung wurden mit schwarzer Plastikfolie verdunkelt und die Sprosse in späteren Wachstumsstadien hochgebunden (Abb. 1).

Die für die Wasserkultur verwendete Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung in mval/l (5l Gefäßsystem):

1.5	mval	K	3.0	ppm	Fe
2.0	"	Ca	0.2	"	Mn
1.5	"	Mg	0.1	"	Cu
3.5	"	NO ₃	0.1	"	Zn
0.75	"	SO ₄	0.2	"	B
0.75	"	H ₂ PO ₄	0.1	"	Mo

Um ein gleichmäßiges N-Angebot bei der kontinuierlich N-ernährten Variante zu gewährleisten, wurde alle zwei Tage mittels einer

*) Das Saatgut wurde in dankenswerter Weise von der "Norddeutschen Pflanzenzucht (Hohenlieth)" zur Verfügung gestellt.

Nitratelektrode (Firma Orion) der NO_3^- -Gehalt der Nährlösung kontrolliert; sobald die NO_3^- -Konzentration unter 50 % gesunken war, wurde N in Form von KNO_3 nachgedüngt, da die Aufnahmerate von NO_3^- und K^+ bei Kartoffelpflanzen in diesem Wachstumsstadium ähnlich sind. Ein vollständiger Nährlösungswechsel erfolgte wöchentlich.



Abb. 1: Schematische Darstellung des verwendeten Gefäßsystems zur Anzucht von Kartoffelpflanzen in Wasserkultur

Um den Einfluß der N-Ernährung auf den endogenen Cytokininspiegel zu untersuchen, wurde ein Teil der Pflanzen in bestimmten Zeitabständen in eine N-freie Nährlösung überführt und dort unterschiedlich lang gehalten (diskontinuierliches N-Angebot). Hierbei wurde in der Nährlösung NO_3^- durch SO_4^{2-} ersetzt. Die Länge dieser N-Entzugsphase richtete sich nach dem jeweiligen Versuchsplan.

Alle Versuche wurden in Klima-Kammern unter folgenden klimatischen Bedingungen durchgeführt: Temperatur Tag und Nacht 20°C , relative Luftfeuchtigkeit 60-80 %, Tageslänge 12 Stunden, Lichtintensität 6000 Lux (Leuchtstoffröhren Osram Hellweiß 40 W/20 und Fluora 40 W/77 im Verhältnis 2:1).

Unter diesen Bedingungen bildeten die Pflanzen ca. 14 Tage nach der Überführung in Wasserkultur Stolonen. Dieser Zeitpunkt richtete sich jedoch nach dem physiologischen Alter der Pflanzen (s. S. 12); physiologisch alte Pflanzen hatten oft schon zum Zeitpunkt des Übertragens in Wasserkultur Stolonen. Länge und Anzahl der Stolonen richtete sich nach der N-Ernährung, schwankte jedoch von Pflanze zu Pflanze stark. Es war trotzdem ein klarer Trend erkennbar: die diskontinuierlich N-ernährten Pflanzen hatten viele kurze, die kontinuierlich N-ernährten Pflanzen hingegen wenige lange Stolonen ausgebildet.

Unabhängig von der N-Ernährung haben Pflanzen je nach Lagerdauer und Art der Mutterknollen unter sonst gleichen Umweltbedingungen eine unterschiedliche Bereitschaft zur Knolleninduktion (s. physiologisches Alter, S. 12). Dies erschwerte natürlich zusätzlich die Erfassung kausaler Zusammenhänge zwischen N-Ernährung, Cytokininaktivität und Knolleninduktion, da die verschiedenen Versuche zwar unter kontrollierten Bedingungen in Klima-Kammern, aber mit Pflanzen aus unterschiedlich alten Mutterknollen durchgeführt werden mußten.

Um sicherzustellen, daß es bei den Untersuchungen über den Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in den verschiedenen Pflanzenorganen der Kartoffel nicht zu Interferenzen mit den möglicherweise durch die Knolleninduktion selbst ausgelösten Veränderungen kommt, wurden für diesen Fragenkomplex Pflanzen aus physiologisch jungen Knollen verwendet, die bekanntlich eine lange vegetative Phase aufweisen. Für die Untersuchung des Einflusses der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität vor und nach der Knolleninduktion wurden dagegen Pflanzen aus physiologisch alten Knollen verwendet, die zu einer schnellen und gleichmäßigen Knolleninduktion neigen.

2. Ringelung

Um den Wirkungsmechanismus des Faktors N-Ernährung auf die Knolleninduktion näher zu untersuchen, war es nötig, den basipedalen Transport zu unterbinden. Dies geschah durch Ringelung und wurde nach der von Eschrich (1966) beschriebenen Methode mit heißem Wasserdampf durchgeführt (Abb. 2). Die zu ringelnde Stengelpartie wurde mit Alufolie und einer Dichtungsmasse (Bostik) gegen die übrigen Pflanzenorgane abge-



Abb. 2: Schematische Darstellung der Ringelung mittels heißen Wasserdampfes

schirmt und die Pflanze mittels eines Fadens an einem Stativ aufgehängt. Die Wurzeln und Stolonen befanden sich dabei in Nährlösung oder Leitungswasser. Während der Ringelung (Dauer siehe Ergebnisteil) wurde die Pflanze am Faden um ihre Achse gedreht. Hierdurch wurde eine gleichmäßige Ringelung erreicht.

3. Exsudatgewinnung

Zur Gewinnung von Exsudat wurden die Pflanzen ca. 5 cm über dem Wurzelansatz dekapitiert und ein Plastikröhrchen mit Dichtungsmasse (Bostik) auf dem verbleibenden Stumpf befestigt. Danach wurde 24 Stunden

lang das Exsudat alle 2 Stunden mit einer Pipette aus dem Plastikröhrchen entfernt und bis zur Extraktion der Cytokinine bei -30°C in der Tiefkühltruhe aufbewahrt.

4. Ernte der Pflanzen

Die Ernte erfolgte nach Versuchsplan (s. Ergebnisteil; das in Tagen angegebene Pflanzenalter gibt die Tage nach Überführen in Wasserkultur an). Es wurde darauf geachtet, daß die Ernte stets zur gleichen Tageszeit erfolgte, um eine Beeinflussung des Phytohormonspiegels durch einen eventuellen Tagesrhythmus auszuschließen. Unmittelbar nach der Ernte wurden die einzelnen Fraktionen (Wurzeln, Stolonen, Sproß) in flüssigem Stickstoff schock-gefroren, in Plastiktüten eingeschweißt und bis zur baldigen Extraktion in der Tiefkühltruhe bei -30°C aufbewahrt.

5. Extraktion und Reinigung der Cytokinine

Extraktion und Reinigung der Cytokinine erfolgten in Anlehnung an Hewett and Wareing (1973 a), wurden jedoch aufgrund der speziellen Probleme, die sich bei der Extraktion von relativ altem Sproßmaterial stellten (hoher Gehalt an Farbstoffen und phenolischen Substanzen), verschiedentlich modifiziert (vgl. auch Schema, S. 20). Das tiefgefrorene Pflanzenmaterial wurde in eiskaltem, 80 %igem Methanol mit einem Homogenisator (Waring Comercial Blendor) 2 min. bei höchster Geschwindigkeit homogenisiert (pro 10 g FS / 50 ml Methanol) und anschließend für 4 Stunden bei $+4^{\circ}\text{C}$ auf einem Horizontalschüttler extrahiert, abgenutscht und der Rückstand mit der gleichen Menge Methanol erneut 2 Stunden lang extrahiert. Dieser Vorgang wurde ein drittes Mal wiederholt. Die vereinigten Methanol-Extrakte wurden im Vakuum bei $+50^{\circ}\text{C}$ auf die wässrige Phase eingengt und diese über Nacht eingefroren. Nach dem Auftauen wurde der Extrakt 1 Stunde lang bei 40 000 g zentrifugiert, der Überstand dekantiert, der Rückstand mit H_2O aufgeschwemmt, erneut zentrifugiert, mit dem ersten Überstand vereinigt und der Rückstand verworfen. Die vereinigten Überstände wurden nach Einstellen auf pH 6.2 über eine zuvor gereinigte Kationenaustauschersäule ($\varnothing$ 3 cm) gegeben, deren Länge sich nach dem aufzubereitenden Pflanzenmaterial richtete. Als Kationenaustauscher diente

Zerolit 225, 52-100 mesh standard resin der Firma BDH Chemicals Ltd.. Die Säule wurde anschließend mit 4 Säulenvolumina H_2O eluiert. In dem wässrigen Eluat befinden sich neben den sauren Phytohormonen auch die in der vorliegenden Arbeit nicht untersuchten Cytokininribotide. Anschließend wurden die freien Cytokinine und Cytokininriboside durch 2N NH_4OH eluiert (ebenfalls mit 4 Säulenvolumina). Nach Entfernen des NH_3 wurde die wässrige Phase mit HCl auf pH 3.5 eingestellt, 4 mal mit gleichem Volumen Diäthyläther ausgeschüttelt und die Ätherphase verworfen. Nach Einstellen auf pH 7.0 mit NaOH, wurde die wässrige Phase 4 mal mit gleichen Volumina wassergesättigtem n-Butanol ausgeschüttelt. Die vereinigten Butanolphasen wurden im Vakuum bei +50 °C zur Trockene eingeengt und mit einer definierten Menge 80 %igem Methanol aufgenommen. Dieser Extrakt wurde anschließend dünnschichtchromatographisch aufgetrennt (s.u.). Bei allen Schritten kamen ausschließlich frisch redestillierte organische Lösungsmittel zur Anwendung.

6. Vergleich zweier Extraktionsmethoden

Im Rahmen des Schwerpunktprogramms "Speicherungsprozesse bei Kulturpflanzen und deren Regulation" der Deutschen Forschungsgemeinschaft wurde zwecks Vereinheitlichung der Methoden ein Extraktionsschema entwickelt, bei dem darauf Wert gelegt wurde, die wichtigsten Phytohormone aus einer Probe zu extrahieren (s. Schema, S. 21).

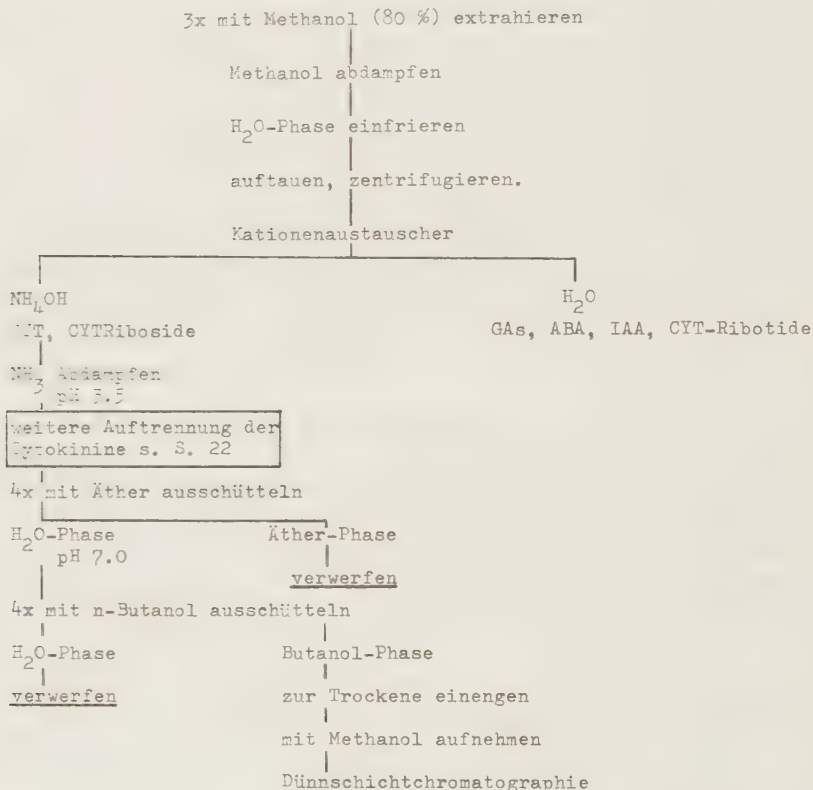
Um die dort vorgeschlagene Methode mit der in der vorliegenden Arbeit verwendeten (s. Schema, S. 20) zu vergleichen, wurde der methanolische Pflanzenextrakt geteilt und jede Hälfte nach einer der beiden Methoden aufgearbeitet. Dabei ergab sich, daß die vom Schwerpunktprogramm vorgeschlagene Methode zur Extraktion von Cytokinin aus relativ alten Kartoffelpflanzen nicht ohne weiteres geeignet ist. Insbesondere bei Sproßextrakten zeigt die saure Wasserphase starke Verunreinigungen, die eine umfangreiche Reinigung erforderlich machen. Der durchgeführte Vergleich ergab, daß mit der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Extraktionsmethode im Biotest eine um den Faktor 4 höhere Cytokininaktivität nachgewiesen werden konnte.

7. Reinigung des Kationenaustauscherharzes

Zerolit 225 wurde solange in einem Becherglas mit destilliertem Wasser gewaschen, bis der Überstand klar blieb; anschließend wurde der Kationenaustauscher in 33 %iges NH_4OH überführt und darin über Nacht belassen.

Schema der Extraktion und Reinigung der Cytokinine aus Pflanzenmaterial

das tiefgefrorene Pflanzenmaterial mit eisgekühltem, 80 %igem Methanol
in einem Commercial Blender homogenisieren



Hierauf wurde das Austauscherharz erneut mit destilliertem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser neutral war. Nachdem die Säule mit Austauscher gefüllt war, erfolgte eine zusätzliche Reinigung mit je 1 l 0.1 N CH₃COONH₄ und 1 %iger CH₃COOH. Hierauf wurde so lange mit destilliertem Wasser eluiert, bis das Eluat einen pH-Wert von 6.0 aufwies. Nach einmaligem Gebrauch wurde das Austauscherharz verworfen.

Schema der Extraktion und Reinigung von ungebundenen Phytohormonen aus Pflanzenmaterial (vorgeschlagen vom Schwerpunktprogramm der DFG)

1. das gefrorene Pflanzenmaterial mit Trockeneisschnee im Waring Blendor (Metallaufsatz) feinmahlen
2. Zugabe der 5fachen Menge (w:v) an 80 %igem MeOH
3. ca. 120 min. bei ca. 2 °C im Dunkeln rühren
4. abzentrifugieren
5. Rückstand noch 2x für je 30 min. wie oben extrahieren
6. vereinigte Auszüge im Vakuum bei ca. 30 °C bis auf den wässrigen Rückstand einengen
7. mit 1 N HCl auf pH 2.5 bringen
8. 4x mit je 1/3 Vol. wassergesättigtem Äthylacetat ausschütteln
 - saure Äthylacetat-Phase
(enthält GAS, ABA, IAA,
apolare CYT)
 - saure wässrige Phase
(enthält polare CYT wie
Zeatin u. Z. Ribosid)
9. vereinigte Äthylacetat-Phasen
1x mit ca. 5 Vol% Wasser waschen
10. 3x mit je 1/2 Vol. 0.1 M K_2HPO_4 (Äthylacetat gesättigt) ausschütteln
 - alkalische wässrige Phase
(enthält GAS, ABA, IAA)
 - alkalische Äthylacetat-Phase
(enthält apolare CYT)
11. Wasserphase mit 5 N HCl
auf pH 3.0 bringen
12. 4x mit je 1/3 Vol. wasserges. Äthylacetat ausschütteln
 - saure Äthylacetat-Phase
(enthält GAS, ABA und IAA)
 - saure Wasser-Phase
13. vereinigte Äthylacetat-Phasen 4x mit je 5 Vol% Wasser waschen;
Wasser mit etwas Äthylacetat "zurückwaschen"
14. bei ca. 30 °C im Vakuum bis zur Trockene einengen
15. Aufnehmen des Extrakts in Aceton oder MeOH
16. Weiterverarbeiten des Extrakts für Biotest, GC etc.

8. Dünnschichtchromatographie

Auf gründlich gereinigten Glasplatten wurde Cellulosepulver MN300g der Firma Machery & Nagel in einer Schichtdicke von 0.5 mm aufgetragen. Hierzu wurden 17 g Cellulosepulver in 100 ml H_2O mittels eines Mixstabes homogenisiert. Zum Auftragen diente das DC-Streichgerät der Firma Desaga. Die lufttrockenen Platten wurden vor der Benutzung in dem auch zum Entwickeln der Platten verwendeten Laufmittel Butanol-2: NH_4OH : H_2O =6:2:2 gereinigt. Hierauf wurden der methanolische Extrakt mittels eines "Micro-Dosers" der Firma Desaga aufgetragen und die Platten bis zu einer Höhe von 15 cm entwickelt. In dem verwendeten System betrugen die RF-Werte für Zeatin 0.7, Zeatinribosid 0.7, Benzylaminopurin 0.95, Dimethylallyladenin 1.0 und Dimethylallyladosin 1.0. Nach dem Abdampfen des Laufmittels wurde die Laufstrecke in 10 gleiche Streifen (entsprechend 0.1 RF) unterteilt und diese mittels einer Rasierklinge abgeschabt und in 10 ml des auch zur Durchführung des Biotests verwendeten 2 mM Phosphatpuffer (pH 5.8) bei 30 °C in einem Schüttelwasserbad eluiert.

9. Weitere Auftrennung der Cytokinine

Zur näheren Charakterisierung der in Kartoffelpflanzen enthaltenen Cytokinine wurde bei einem Teil der Versuche der Extrakt zunächst nach dem Schema auf S. 20 gereinigt. Nach dem Abtrennen der sauren Pflanzenhormone von den Cytokinininen durch den Kationenaustauscher und dem anschließenden Abdampfen des Ammoniaks wurde der wässrigen Phase PVP (Polyvinylpyrrolidon) der Firma Erpslöh & Co. (Polyclar AT) zugesetzt und über Nacht bei +4 °C auf einem Horizontalschüttler belassen.

Nach dem Abnutschen wurde das Filtrat im Vakuum zur Trockene eingedunstet, mit wenig H_2O aufgenommen und der pH mit HCl auf 3.5 eingestellt. Anschließend wurde 4 mal mit Diäthyläther ausgeschüttelt. Die weitere Reinigung erfolgte nach der bereits beschriebenen Methode (s. Schema S. 20). Zur weiteren Auftrennung der Cytokinine wurde in Anlehnung an Thomas et al. (1974) eine PVP-Säule 2x40 cm benutzt, die bis zu einer Höhe von 33 cm gefüllt wurde. Die Säule

wurde mit dem in 0.013 M Phosphatpuffer (pH 6.4) gelösten Extrakt beladen. Eluiert wurde mit dem gleichen Puffer bei einer Fließgeschwindigkeit von 35 ml/h. Es wurden 60 Fraktionen von je 20 ml genommen. Von jeder Fraktion wurde ein Aliquot - entsprechend 100 g FS - entnommen und im Sojabohnenkallustest auf Cytokininaktivität untersucht. Aus technischen Gründen wurden die für diese Experimente benötigten 5 kg FS in 5 Teile geteilt und in der beschriebenen Weise nacheinander aufgearbeitet.

10. Hochdruckflüssigkeitschromatographie*

Benutzt wurde eine 250x0.3 mm fertig gepackte Stahlsäule der Firma Latek (Silica Gel 10 μ ODS/C18-0.10 S, "permanent bound reverse phase column"). Der Säulendruck betrug 1000 psi bei einem Fluß von 40 ml/h. Als Elutionsmittel diente 40 %iges Methanol. Die UV-Absorption wurde bei 254 nm gemessen. Als Detektor diente der LDC 1285 der Firma Latek. Injiziert wurde über eine Schleife mit einem Volumen von 3.5 μ l.

11. Durchführung der Biotests

a. Chlorophyllbildungstest

Dieser von Fletcher (1971) erstmals beschriebene Cytokinitest wurde im Rahmen einer Diplomarbeit modifiziert (Sattelmacher, 1973). Etwa 400 Gurkensamen (*Cucumis sativus* L. var. Chinesische Schlange) wurden in mit Leitungswasser befeuchtetem Vermiculit in Eternitschalen ausgelegt und mit einer ca. 5 mm dicken Vermiculitschicht bedeckt. Die Keimung erfolgte in absoluter Dunkelheit bei 28 °C. Nach 6 Tagen wurden die etiolierten Kotyledonen unter grünem Sicherheitslicht mit einer Rasierklinge so abgeschnitten, daß möglichst wenig Hypokotyl mit inkubiert wurde, die Kotyledonen jedoch nicht auseinanderfielen (s. Abb. 3). Hierauf wurde besonders geachtet, da nach Hardey et al. (1970, 1971) im Hypokotylhaken eine Substanz enthalten ist, die die Chlorophyllbildung positiv beeinflusst und somit eine Erhöhung des "Background" bewirken kann.

*) Die Auftrennung mittels HPLC wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Hahn, Botanisches Institut der Universität Bonn, durchgeführt.



Abb. 3: Schematische Darstellung eines Gurken-
keimlings
A-B Hypokotylhaken, B Schnittstelle

Die Inkubation erfolgte in Petrischalen ($\varnothing$ 5 cm), wobei die Kotyledonen jedoch nicht, wie bei Fletcher beschrieben, direkt in die zu testende Lösung gelegt wurden, sondern senkrecht mit dem Hypokotylende nach unten in mit Lösung vollgesogenen Schaumstoff gesteckt wurden. Der Schaumstoff (2 mm dick) wurde vor Gebrauch gründlich gewaschen, in Scheiben geschnitten ($\varnothing$ 4 cm) und mit 10 Löchern versehen. In jedes Loch wurde ein Kotyledonenpaar gesteckt (s. Abb. 4).

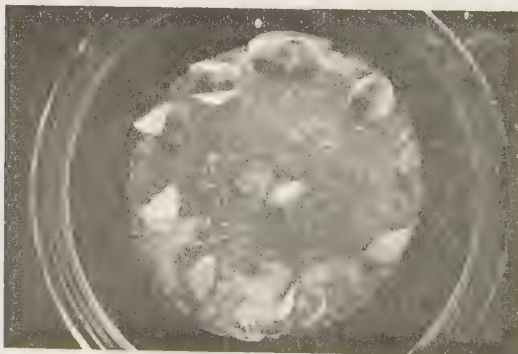


Abb. 4: Inkubation der Gurkenkotyledonen in der mit Testlösung
vollgesogenen Schaumstoffscheibe

In jede Petrischale wurden 3 ml der zu testenden Lösung gegeben. Nach Gebrauch wurde der Schaumstoff verworfen.

Vorversuche hatten gezeigt, daß das Cellulosepulver der verwendeten Dünnschichtplatten keinen störenden Einfluß auf die Durchführung des Tests besitzt; dies steht in Einklang mit den Ergebnissen von Wagner (1970). Aus diesem Grunde brauchte das Cellulosepulver nach der Eluierung des aufgetrennten Extraktes nicht von dem zur Inkubation der Gurkenkotyledonen verwendeten 2 mM Phosphatpuffer abgetrennt werden. Für jeden RF-Streifen wurden mindestens drei Wiederholungen angesetzt. Als Kontrolle diente stets das Eluat von Cellulosepulver der jeweils verwendeten Platte. Darüberhinaus wurde jeweils ein Kinetin-Standard als Vergleich mitgetestet.

Nach Abschluß der 17stündigen Inkubation, die ebenfalls im Dunkeln erfolgte, wurden die Kotyledonen für drei Stunden belichtet, wobei Leuchtstofflampen als Lichtquelle dienten (3000 Lux, Osram Hellweiß 25 W und Osram Fluora 40 W im Verhältnis 2:1). Unmittelbar nach Abschluß der Belichtung wurden jeweils die 10 Kotyledonen einer Petrischale sofort in 10 ml 80 % Aceton unter Zugabe einer Spatelspitze MgCO_3 1 min. lang mit einem Ultra-Turax bei mittlerer Geschwindigkeit in einem Zentrifugenglas homogenisiert, wobei mit Wasser gekühlt wurde. Das Homogenisat wurde 5 min. bei 2000 g zentrifugiert, der Überstand dekantiert, auf das Endvolumen von 10 ml gebracht und anschließend die Extinktion bei 668 nm mittels eines Spektralphotometers (Zeiss PMQ II) bestimmt. Bei der Verarbeitung wurde darauf geachtet, daß zwischen Ernte und Messung nicht mehr als drei Stunden vergingen und die Proben keiner starken Belichtung ausgesetzt waren.

b. Soja-Kallustest

Die Durchführung des Soja-Kallustests erfolgte nach der von Miller (1965) gegebenen Anleitung. Die Zusammensetzung des verwendeten Nährmediums war wie folgt:

KH_2PO_4	300	mg/l	KJ	0.8	mg/l
KNO_3	1000	"	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0.35	"
NH_4NO_3	1000	"	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.1	"
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	500	"	Myo-Inositol	100	"
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	71.5	"	Nicotinsäure	0.5	"
KCl	65	"	Pyridoxin-HCl	0.1	"
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	10.5	"	Thyamin-HCl	0.1	"
NaFe-EDTA	13.2	"	NAA	2	"
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.8	"	Saccharose	30 000	"
H_3BO_3	1.6	"	Bacto-Agar	10 000	"

Für die Stammkulturen wurde dem Medium zusätzlich 0.5 mg Kinetin/l zugesetzt. Der pH wurde auf 5.8 eingestellt. Für jeden Kolben wurden 50 ml des Nährmediums verwendet. Die Sterilisation erfolgte bei 1 atm 30 min. lang im Autoklaven.

Unter sterilen Bedingungen wurden je vier Kallus-Stückchen gleicher Größe in jeden Kolben übertragen, wobei darauf geachtet wurde, daß der verwendete Kallus nach Möglichkeit weiß und kräftig gewachsen war. Nach drei Wochen Wachstum bei 27 °C in konstantem weißem Licht (Osram Hellweiß, 40 W, 2800 Lux) wurden die vier Kallusstückchen eines Kolbens gemeinsam gewogen. Jeder Test wurde mit zwei Wiederholungen und einer Eichreihe durchgeführt.

12. Vergleich des Chlorophyllbildungstests mit dem Soja-Kallustest

Grundsätzlich erscheint es sinnvoll, die mit dem Biotest erzielten Ergebnisse in einem zweiten Biotest zu überprüfen. Dies war bei der vorliegenden Arbeit um so wichtiger, als der verwendete Biotest (Chlorophyllbildungstest) sich zwar als gut geeignet für die Probleme der vorliegenden Arbeit erwies, andererseits aber relativ wenig Arbeiten mit diesem Test publiziert sind. Um die mit dem Chlorophyllbildungstest erzielten Ergebnisse stichprobenartig zu überprüfen, wurde deshalb bei einigen Fraktionen die biologische Aktivität sowohl im Chlorophyllbildungstest als auch im Soja-Kallustest ermittelt.

Wie aus Abb. 5 ersichtlich, ist die Übereinstimmung beider Testmethoden zufriedenstellend; allerdings wurde mit dem Soja-Kallustest eine niedrigere Cytokininaktivität ermittelt. Das mag an der recht unbefriedigenden Empfindlichkeit des verwendeten Kallus liegen.

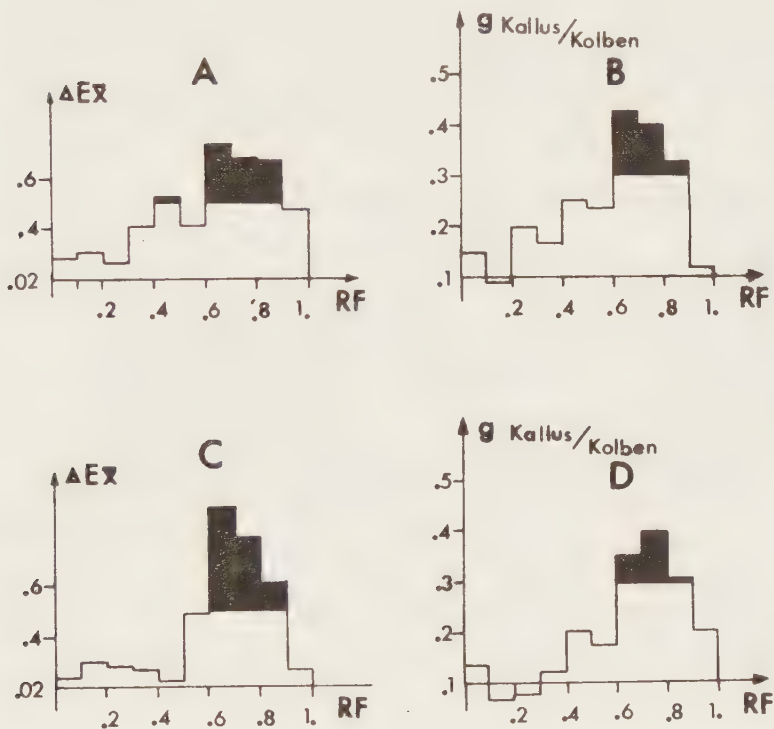


Abb. 5: Vergleich des Chlorophyllbildungstests mit dem Soja-Kallustest
A: Histogramm junger Knollen (Chlorophyllbildungstest)
B: " " " (Soja-Kallustest)
C: " eines Sprosses (Chlorophyllbildungstest)
D: " " " (Soja-Kallustest)

Die schwarzen Flächen geben die nach dem unter Abschnitt 14 angegebenen Verfahren ermittelte signifikante biologische Aktivität an (s.u.).

Diese übereinstimmenden Ergebnisse bedeuten jedoch nicht, daß bedenkenlos alle mit dem Chlorophyllbildungstest gewonnenen Ergebnisse mit den Resultaten des Soja-Kallustest verglichen werden dürfen. So weist Mothes (persönliche Mitteilung) darauf hin, daß Cytokininribotide vom Kallus gespalten werden können, während dies die meisten anderen Biotests nicht vermögen. Unbedenklich lassen sich daher nur in verfahrensgleichen Biotests erzielte Ergebnisse miteinander vergleichen.

13. Auswertung des Chlorophyllbildungstests

Wie aus Abb. 6 hervorgeht, treten zwischen den absoluten Höhen der Chlorophyllgehalte von Biotest zu Biotest größere Unterschiede auf; diese Unterschiede beziehen sich jedoch nicht auf die Reaktion gegenüber Kinetin, wie der nahezu parallele Verlauf der einzelnen Kurven zeigt, d.h. die Empfindlichkeit des Biotests wurde davon nicht betroffen. Es bot sich daher an, anstatt des Mittelwertes der Extinktionswerte ($\bar{x}$) die Differenz dieses Mittelwertes zu dem der Kontrolle ($\Delta\bar{x}$) zu berücksichtigen. Aus dieser Überlegung ergab sich die in Abb. 7 dargestellte Eichkurve. Es handelt sich hierbei um die graphische Darstellung einer Exponentialfunktion. Stellt man die Werte in einem doppelt-logarithmischen Koordinatensystem dar, so läßt sich auf graphischem Wege eine Gerade anpassen (Abb. 8).

Die rechnerische Angleichung mit Hilfe der Regressionsrechnung ergab eine Gleichung für die Regressionsgerade von

$$Y = 1.53 + 2.94x \quad (\text{Gl. 1})$$

Daraus bestimmt sich die Gleichung der Eichkurve als

$$y = 10^{(1.54 + 1gx)/0.34 - 3} \quad (\text{Gl. 2})$$

für $10^{-6} \leq x \leq 10^{-2}$ g Kinetin/l

Als Vertrauensbereich der y-Werte wurde der ein-s-Bereich gewählt. Mit Hilfe einer Rechenanlage wurde aus Gleichung 2 eine ausführliche Wertetabelle erstellt, aus der sich für die Extinktionswerte in dem genannten Bereich die Werte für die Cytokininaktivität ablesen lassen.

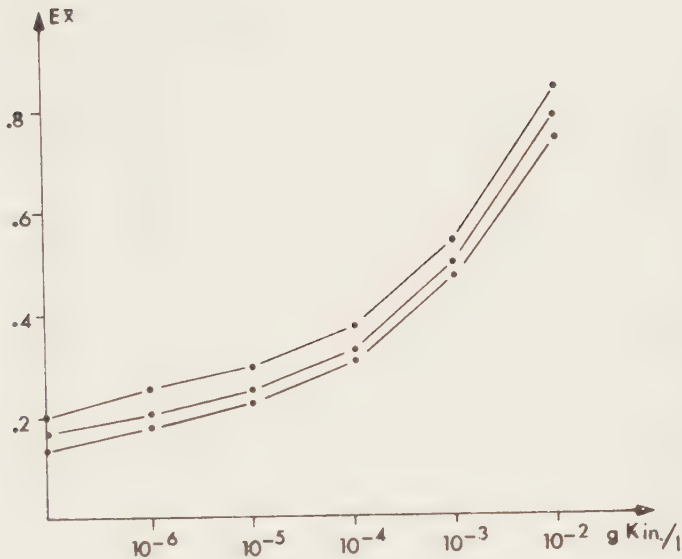


Abb. 6: Chlorophyllgehalte in 6 Tage alten Gurkenkotyledonen nach 17stündiger Inkubation in Kinetinlösungen und anschließender 3stündiger Belichtung. 3 verschiedene Versuchsansätze.

14. Absicherung der Signifikanz der biologischen Aktivität

In jedem Test wurde die Extinktion der Kontrolle und der RF-Fractionen mit je drei Wiederholungen gemessen.

Zur Prüfung, ob der Mittelwert der Extinktion ΔE_i der i-ten Fraktion von der Kontrolle ΔE_K signifikant verschieden ist, d.h. eine signifikante biologische Aktivität vorliegt, wurde das von Lindner (1964) beschriebene Verfahren zur Prüfung des Unterschiedes zweier Durchschnitte angewandt.

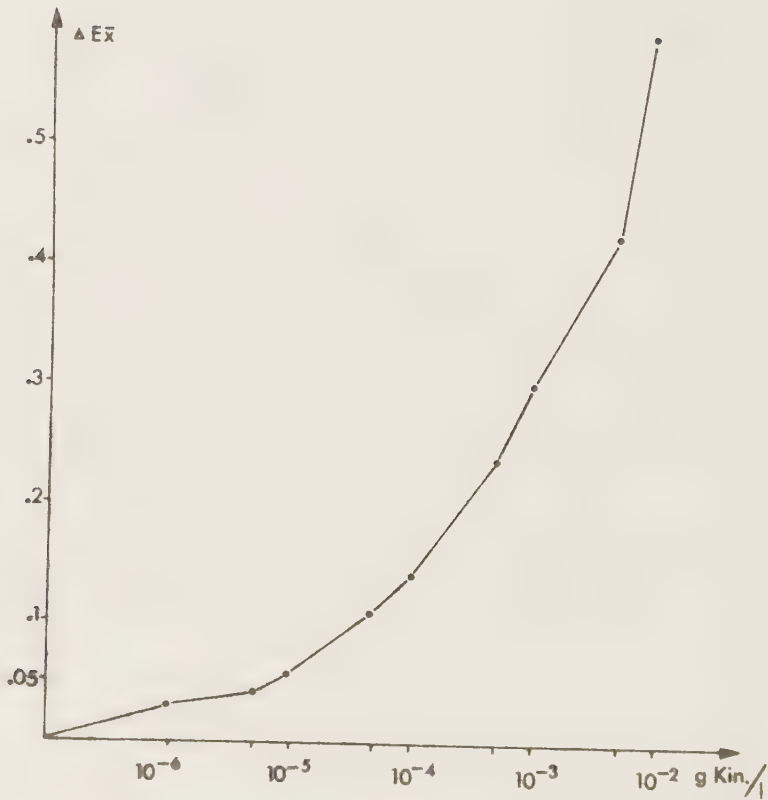


Abb. 7: Einfluß steigender Kinetinkonzentrationen im Inkubationsmedium auf den Chlorophyllgehalt etiolierter Gurkenkotyledonen nach 17stündiger Dunkelinkubation und 3stündiger Belichtung. Es wurde der Anstieg $\Delta E \bar{x}$ aufgetragen.



Abb. 8: Regression der Chlorophyllbildung in etiolierten Gurkenkötylexonen auf steigende Cytokininkonzentration im Inkubationsmedium nach 17stündiger Dunkelinkubation und 3stündiger Belichtung. Geradendarstellung im doppelt-logarithmischen Koordinatensystem mit Konfidenzgeraden. Konfidenzbereich: 1s.

Dafür ist der empirische t-Wert t_{EMP} zu vergleichen mit dem entsprechenden Wert t_{TH} der tabellierten t-Verteilung; bei 2 Freiheitsgraden und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $\alpha = 0.05$ ist die biologische Aktivität signifikant, wenn:

$$t_{\text{EMP}} > t_{\text{TH}} [2; 0.05]$$

$$(t_{\text{TH}} = 4.303)$$

$$t_{\text{EMP}} = \frac{\overline{\Delta E}_i - \overline{\Delta E}_k}{S_G} \cdot \sqrt{1.5}$$

wobei S_i^2 die Varianz in der i-ten Fraktion und S_k^2 die Varianz der Kontrollwerte bezeichnet.

$$S_G = \sqrt{1/4 - (S_i^2 + S_k^2)}$$

Die so ermittelte signifikante biologische Aktivität wird in den Histogrammen als schwarze Fläche dargestellt.

1.1. Ergebnisse

1. Der Chlorophyllbildungstest

Im Rahmen einer Diplomarbeit (Sattelmacher, 1973) wurde der von Fletcher beschriebene Biotest variiert. Die wesentlichsten Veränderungen werden aus Gründen der allgemeinen Zugänglichkeit hier noch einmal zusammengefaßt; die aus der Diplomarbeit stammenden Ergebnisse sind als solche gekennzeichnet.

Die Hauptschwierigkeit bei der Modifizierung des Chlorophyllbildungstests bestand in der Verbesserung der Inkubationsmethode. Schon die ersten nach Fletchers Anleitung (1971) durchgeführten Versuche zeigten, daß die Kotyledonenunterseite, die in die Kinetinlösung eintauchte, im Gegensatz zu den nicht direkt mit der Lösung in Kontakt geratenen Teilen der Kotyledonen nicht ergrünte. Auch eine zusätzliche Beleuchtung der Unterseite brachte hier keine wesentliche Verbesserung. Aus der Tatsache, daß die Kotyledonenunterseite auch dann nicht ergrünte, wenn die Keimblätter nach Abschluß der Dunkelinkubation, also vor der Belichtung, umgedreht wurden und damit während der Belichtung nicht in die Inkubationslösung tauchten, muß auf eine physiologische Schädigung als Folge des 17stündigen Eintauchens in die Inkubationslösung geschlossen werden.

Zwar konnte durch Senken des Flüssigkeitsspiegels eine geringfügige Verbesserung erreicht werden, jedoch war in dem Nichtergrünen der Kotyledonenunterseite eine entscheidende Fehlerquelle zu sehen, die es zu beseitigen galt.

Um ein gleichmäßiges Ergrünen der Kotyledonen zu gewährleisten, wurden verschiedene Arten der Inkubation getestet. Aus der Arbeit von Lagerstedt and Langrton (1967), besonders aber aus der von Miller (1956) geht die freie Beweglichkeit des Kinetins im Transpirationsstrom hervor. So beschreibt Miller, daß die Primärblätter intakter Bohnenpflanzen (*Phaseolus vulgaris*) auf Kinetin-Applikation über die Wurzeln in vergleichbarem Maße mit Vergrößerung reagieren wie isolierte Primärblätter. Aufgrund dieser Ergebnisse erschien es durchaus wahrscheinlich, daß

Kinetin - über das Hypokotyl angeboten - durch den Transpirationsstrom in die Kotyledonen gelangt und hier zur Wirkung kommt. Auf diesem Wege schien eine Inkubation ohne die beschriebenen Schädigungen möglich zu sein.

Die Kotyledonen wurden 4.5 cm unterhalb des Hypokotylhakens mit einer Rasierklinge abgeschnitten und zu je 10 Stück in ein Fläschchen mit der zu testenden Lösung gestellt. Die Inkubation wurde wegen der geringen Transpiration der Keimblätter auf 72 Stunden verlängert; der Wasserverbrauch der 10 Kotyledonen betrug in den 72 Stunden knapp 5 ml. Bei der Auswertung stellte sich jedoch heraus, daß der Chlorophyllanstieg nur äußerst gering war (s. Abb. 9). Hingegen konnten einige interessante Nebeneffekte beobachtet werden, z.B. die durch Kinetin hervorgerufene Hemmung des Hypokotylwachstums (s. Abb. 10).

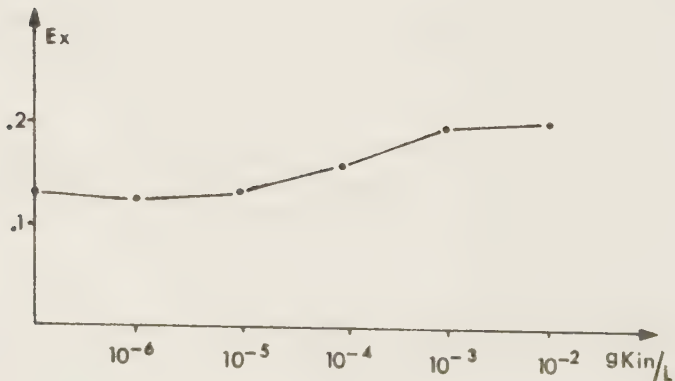


Abb. 9: Chlorophyllbildung in etiolierten Gurkenkotyledonen innerhalb einer dreistündigen Belichtungsperiode nach 72stündiger Applikation des Kinetins in Dunkelheit über das Hypokotyl (nach Diplomarbeit Sattelmacher, 1973)

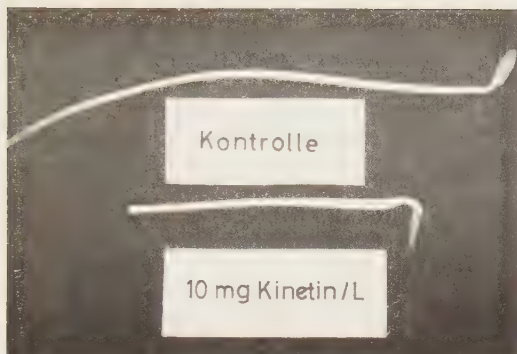


Abb. 10: Einfluß von Kinetin auf das Längenwachstum des Hypokotyls. Inkubationsdauer 72 Stunden in Dunkelheit (nach Diplomarbeit Sattelmacher, 1973)

Wie aus Abb. 11 ersichtlich, ist dieser Effekt nicht nur auf sehr hohe Kinetinkonzentration beschränkt, sondern bereits bei geringeren Konzentrationen nachweisbar. Es lag daher nahe, diese Hemmung des Hypokotylwachstums durch Kinetin als Biotest zu benutzen. Der Vorteil gegenüber anderen Cytokininnachweisreaktionen lag vor allem in der äußerst einfachen Auswertung. Weitere Versuche zeigten, daß dieser Effekt bei einem Alter der Kotyledonen von 5 Tagen am klarsten ausgeprägt war. Unter diesen Bedingungen (Alter 5 Tage, Inkubationsdauer 72 Stunden) ließen sich bereits Kinetinkonzentrationen von 10^{-6} g/l nachweisen (s. Abb. 12). Untersuchungen über den Einfluß anderer Phytohormone auf das Längenwachstum zeigten jedoch, daß es sich hierbei offenbar um eine recht unspezifische Reaktion handelt (s. Abb. 13). Aus diesem Grunde wurden keine weiteren Untersuchungen über diese Kinetinnachweisreaktion durchgeführt.

Das Fehlschlagen der beschriebenen Inkubationsmethode - Angebot über das Hypokotyl - machte eine Modifikation erforderlich, die es erlaubte, Kinetin direkt über die Kotyledonen anzubieten und gleichzeitig die in den ersten Versuchen aufgetauchten Nebenerscheinungen (Nichtergrünen der Kotyledonenunterseite) zu eliminieren. Die Inkubation mit den bereits beschriebenen Schaumstoffscheiben (s. Methodenteil) schien

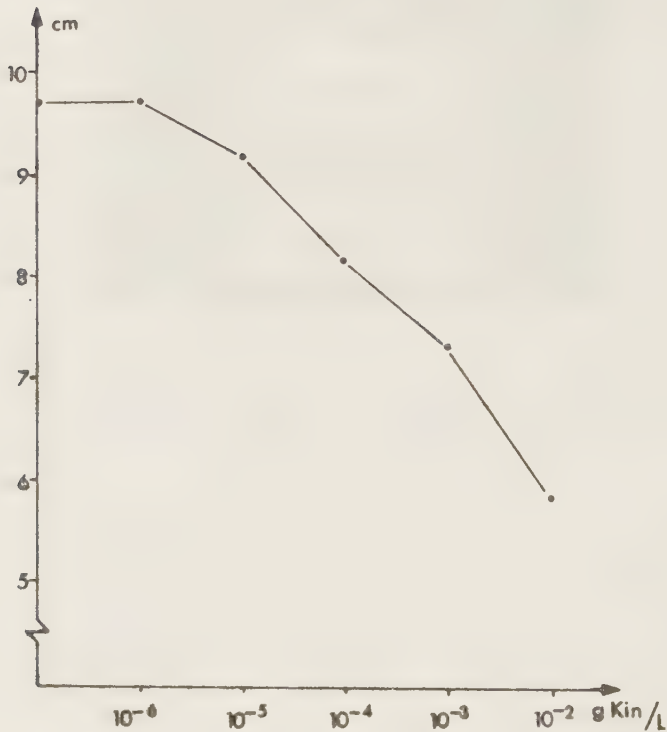


Abb. 11: Einfluß unterschiedlicher Kinetinkonzentrationen auf das Längenwachstum des Hypokotyls. Inkubationsdauer 72 Stunden in Dunkelheit (nach Diplomarbeit Sattelmacher, 1973)

hier den gesuchten Ausweg zu bieten; parallel hierzu wurde eine Inkubation mittels ausgeglühtem, mit der Kinetinlösung durchfeuchtetem Quarzsand, in den die Kotyledonen senkrecht gesteckt wurden, getestet. Abb. 14 zeigt die deutliche Überlegenheit der Inkubation mittels Schaumstoff gegenüber der mit Quarzsand. Die Ursache für die

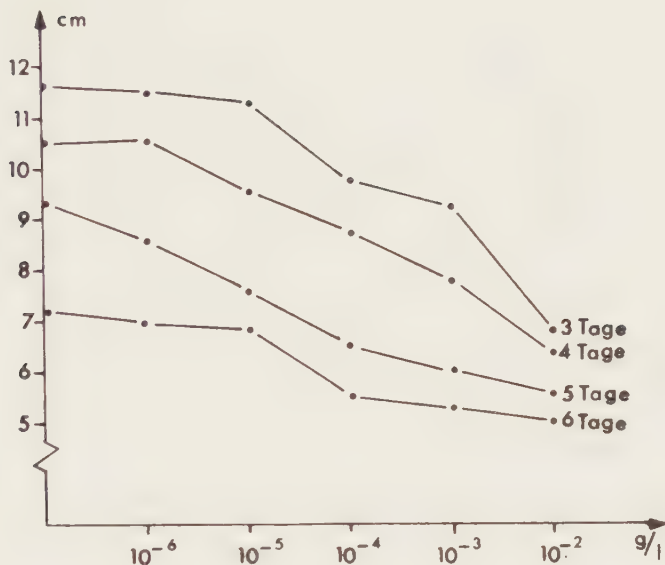


Abb. 12: Einfluß unterschiedlichen Alters der Kotyledonen auf die durch Kinetin hervorgerufene Hemmung des Hypokotylwachstums. Inkubationsdauer: 72 Stunden in Dunkelheit

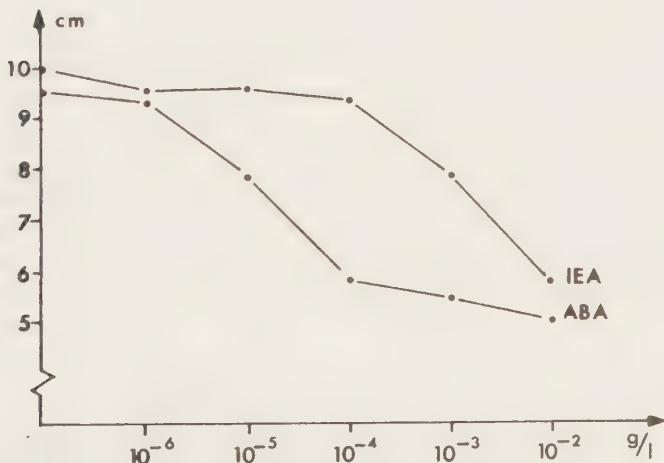


Abb. 13: Einfluß von IAA und ABA auf das Längenwachstum von 5 Tage alten Gurkenhypokotylen. Inkubationsdauer: 72 Stunden

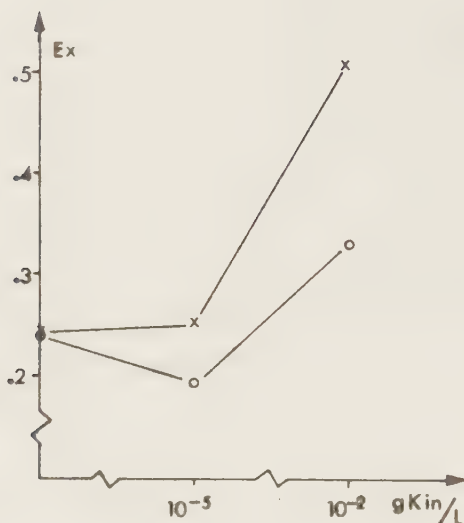


Abb. 14: Einfluß von Kinetin in Quarzsand (-o-) bzw. Schaumstoff (-x-) auf die Chlorophyllbildung in etiolierten Gurkenkotyledonen. Alter: 6 Tage, Inkubationsdauer: 14 Stunden, Belichtungsdauer: 3 Stunden (nach Diplomarbeit Sattelmacher, 1973)

niedrigen Werte bei der Quarzsandinkubation muß vermutlich in einer partiellen Verarmung des Sandes an Kinetin im Umkreis der Kotyledonen bzw. in einem eventuellen Adsorptionseffekt gesucht werden.

Weitere Versuche zeigten, daß sowohl die Inkubationsdauer als auch die Belichtungsdauer großen Einfluß auf die Empfindlichkeit des Biotests haben. Für die verwendete Gurkensorte (*Cucumis sativus* L. var. Chinesische Schlange) erwies sich eine 17stündige Inkubations- und eine 3stündige Belichtungsdauer als optimal.

2. Cytokininbestimmungen

2.1 Einige Anmerkungen zu Konzentrationsangaben

Aus arbeitstechnischen Gründen (Extraktion aus der Frischsubstanz) wird für Phytohormone meist die Frischsubstanz als Bezugsgröße

gewählt. Problematisch wird dies jedoch bei Zeitstudien wie in der vorliegenden Arbeit. Durch verstärkte Bildung von Zellwandsubstanz, z.B. im Sproß, oder durch intensive Einlagerung von Reservestoffen wie Stärke in die wachsenden Knollen, erfolgt eine "Verdünnung" anderer Zellinhaltsstoffe, etwa der Phytohormone, wodurch es bei gleichbleibender oder sogar leicht erhöhter Menge an Phytohormonen je Zelle zu einer Abnahme der Phytohormonkonzentration je Gewichtseinheit Pflanzensubstanz kommen kann. Aus diesem Grunde scheint für derartige Organe die Bezugsgröße Frischsubstanz nicht ausreichend. Es wurde daher für Angaben des Cytokiningehalts zumindest in Kartoffelknollen neben der Bezugsgröße Frischsubstanz auch stets der absolute Cytokiningehalt der Knolle, d.h. die Menge je Organ, angegeben.

Erwähnt werden sollte weiterhin, daß Rückschlüsse aus der im Biotest ermittelten Cytokininaktivität auf den endogenen Cytokininspiegel problematisch sind. Dafür gibt es mehrere Gründe:

1. Durch die Extraktion können Cytokinine verfügbar gemacht werden, die in der pflanzlichen Zelle etwa durch Kompartimentierung oder durch Anlagerung an Proteine in einer physiologisch unwirksamen Form vorliegen.
2. Es ist nicht ausreichend bekannt, welche "Nicht-Cytokinine" den jeweils verwendeten Biotest beeinflussen; zu welchen Fehlschlüssen dies führen kann, zeigten van Staden and Drewes (1974) für den Soja-Kallustest.
3. Verschiedene Cytokinine zeigen sehr unterschiedliche biologische Aktivität in den einzelnen Biotests (Skoog and Armstrong, 1970). So kann etwa ein im verwendeten Biotest nicht oder doch nur schwach wirksames Cytokinin in der untersuchten Pflanze eine hohe Wirksamkeit besitzen; der umgekehrte Fall ist natürlich ebenfalls denkbar.
4. Schließlich muß die gerade im unteren Bereich der Empfindlichkeit eines jeden Biotests sehr hohe Fehlerquote bei Rückschlüssen aus der ermittelten Aktivität auf den endogenen Cytokininspiegel berücksichtigt werden.

Aus den genannten Gründen wird im folgenden stets von Cytokininaktivität (gemeint ist die Cytokininaktivität im verwendeten Biotest) gesprochen, und diese wird, wie in der Literatur üblich, in Kinetinäquivalenten angegeben werden.

2.2 Vorversuche

a. Ermittlung der benötigten Menge an Pflanzensubstanz

In Vorversuchen mußte geklärt werden, wieviel Pflanzenmaterial für die Cytokininbestimmungen in den einzelnen Pflanzenorganen benötigt wird.

Hierzu wurden 400 g FS Sproßmaterial wie beschrieben aufgearbeitet und Aliquote entsprechend 3 g, 30 g und 300 g auf ihre Cytokininaktivität hin untersucht. Es ergab sich, daß die bei 30 g FS gefundene Cytokininaktivität im Biotest gut zu erfassen war, wohingegen bei 3 g FS keinerlei Aktivität nachgewiesen werden konnte. Weiterhin zeigte sich, daß eine Verzehnfachung der Menge an Pflanzensubstanz nicht eine Verzehnfachung der nachweisbaren Cytokininaktivität zur Folge hatte (s. Abb. 15). Dieser Effekt wurde von Okazawa (1967) auch für Gibberelline beschrieben. Es wurde daher im folgenden - wenn nicht anders erwähnt - bei Sproß und Wurzel stets von 30 g FS ausgegangen.

Ein Vergleich der Cytokininaktivität in den unterschiedlichen Pflanzenteilen ergab, daß diese in der Reihenfolge Stolone (bzw. junge Knollen), Wurzel und Sproß abnimmt. Bei Stolonen und jungen Knollen werden nur ca. 1 g FS benötigt, um in den Nachweisbereich des Biotests zu kommen.

b. Ermittlung der Wiederfindungsrate

Bekanntlich treten bei der Reinigung von Phytohormonextrakten ganz erhebliche Verluste auf. Daher ist es notwendig, sich Klarheit über die bei der verwendeten Methode auftretenden Verluste zu verschaffen. Einschränkung muß jedoch festgestellt werden, daß die Aussagekraft derartiger Versuche zur Erfassung der Wiederfindungsrate recht gering ist. So können beispielsweise nach Untersuchungen von Staden (1973) bei Extrakten aus Rumexsamen nahezu alle freien Cytokinine ("free base cytokinin") beim Ausschütteln mit organischen Lösungsmitteln verloren gehen; es ist jedoch weitgehend vom verwendeten chromatographischen System abhängig, ob diese Verluste bemerkt werden.

Gerade über die Verluste, die beim Ausschütteln mit organischen Lösungsmitteln auftreten, liegen recht unterschiedliche Ergebnisse

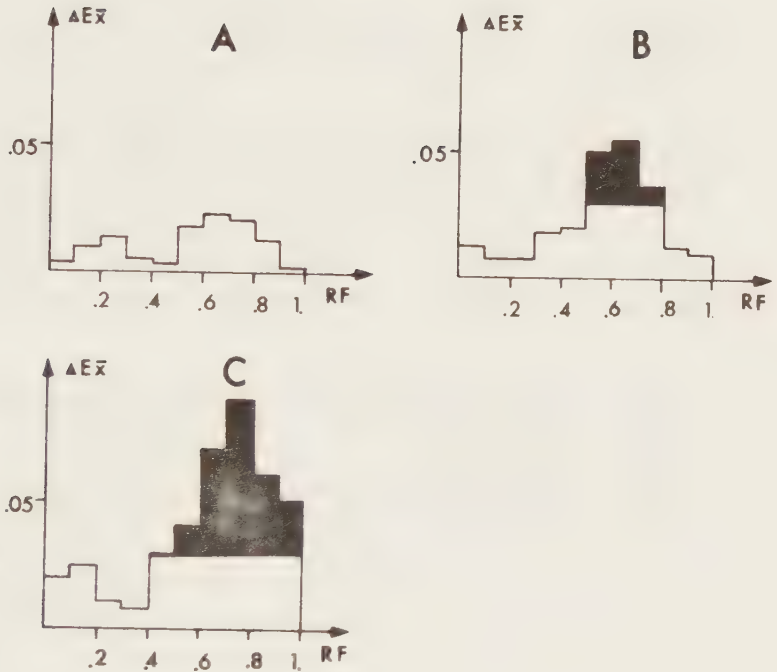


Abb. 15: Einfluß unterschiedlicher Mengen Pflanzensubstanz auf die im Chlorophyllbildungstest nachweisbare Cytokininaktivität.

A: Histogramm eines Extraktes aus 3 g FS
B: " " " " 30 g FS
C: " " " " 300 g FS

vor (Hemberg and Westlin, 1973; Letham, 1974). Diese Diskrepanz liegt sicherlich vor allem an den unterschiedlichen Cytokinin, mit denen diese Autoren arbeiteten. So zeigt Letham (1974) eindrucksvoll, wie vorsichtig man bei Rückschlüssen von Ergebnissen, die mit Kinetin gewonnen wurden, auf andere, "natürliche" Cytokinine sein muß. Aber auch unter diesen sind die zu erwartenden Verluste während eines Extraktionsganges offensichtlich sehr verschieden.

So tritt beispielsweise bei 2-IP (Isopentenyladenin) stets ein um ein vielfaches höherer Verlust auf als bei Zeatin (Letham, 1974).

Da keinerlei Information über die Identität der in Solanaceen vorkommenden Cytokinine vorliegen, wurde bei den Versuchen zur Bestimmung der Wiederfindungsrate Kinetin als Modellsubstanz benutzt.

Hierzu wurden in einem Liter 80 %igen Methanols 1 mg Kinetin gelöst und in der bereits beschriebenen Weise aufgearbeitet. Nach der abschließenden dünnenschichtchromatographischen Auftrennung wurden 60 % des eingebrachten Kinetins im Biotest wiedergefunden. Bei den einzelnen Reinigungsschritten wurden folgende Verluste festgestellt: Kationenaustauschersäule ca. 5 %, Ausschütteln mit n-Butanol 20-30 %, Cellulose-DC ca. 10 %.

c. Einfluß des Ausschüttelns mit Äther auf die im Biotest nachweisbare Cytokininaktivität

Da die durch dünnenschichtchromatographische Auftrennung der Pflanzenextrakte erzielte Trennschärfe häufig nicht befriedigen konnte, wurde untersucht, ob diese durch die Einführung eines zusätzlichen Reinigungsschrittes, Ausschütteln mit Diäthyläther bei pH 3.5, verbessert werden könne. Zwar treten nach Hemberg and Westlin (1973) dabei ganz erhebliche Verluste an Kinetin auf, jedoch konnte Letham (1974) zeigen, daß dies zumindest für die von ihm untersuchten natürlichen Cytokinine nicht gilt.

Daher wurde ein vorhandener Pflanzenextrakt geteilt aufgearbeitet. Bei der einen Hälfte wurde vor dem Ausschütteln mit n-Butanol 4 mal mit gleichem Volumen bei pH 3.5 mit Diäthyläther ausgeschüttelt. Wie aus Abb. 16 ersichtlich, ruft dies bei Extrakten aus Kartoffelblättern eine Erhöhung der im Biotest nachweisbaren Cytokininaktivität und eine Verbesserung dünnenschichtchromatographischer Auftrennung hervor. Bei der Untersuchung der vereinigten Ätherphasen konnte in dieser keinerlei Aktivität im Biotest nachgewiesen werden.

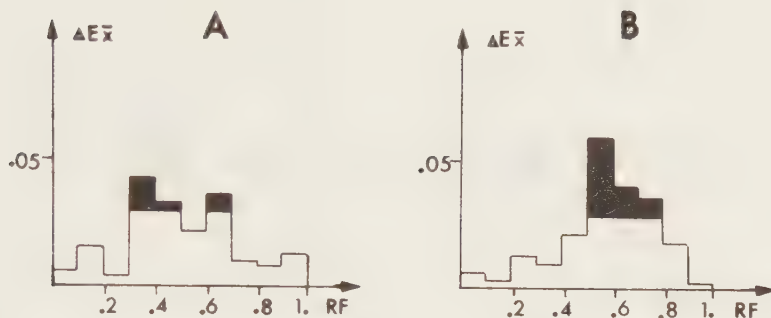


Abb. 16: Histogramme aus Kartoffelblättern
A ohne zusätzliches Ausschütteln mit Äther
B mit zusätzlichem Ausschütteln mit Äther

g. Butanol-unlösliche Cytokinine in Extrakten aus Kartoffelpflanzen

Zur Überprüfung eventueller Restaktivitäten in der nach viermaligem Ausschütteln mit n-Butanol verbleibenden wässrigen Phase wurde diese im Vakuum zur Trockene eingeeengt, mit einer definierten Menge 80 %igem Methanol aufgenommen und papierchromatographisch aufgetrennt (Laufmittel: Butanol-2: NH_4OH : H_2O = 6:2:2). Überraschenderweise konnte eine recht hohe Cytokininaktivität nachgewiesen werden. Diese übertraf beim Sproß sogar die in der Butanolphase nachweisbare Cytokininaktivität (s. Abb. 17).

Hierfür gab es zwei mögliche Erklärungen: zum einen konnte die Ursache in einer unvollständigen Ausschüttelung mit n-Butanol, zum anderen jedoch auch in dem Auftreten Butanol-unlöslicher Cytokinine liegen. Für die Existenz derartiger Cytokinine gibt es Hinweise (Kannangara and Booth, 1974), jedoch ist über ihre Identität nichts bekannt.

Um diese beiden Möglichkeiten zu überprüfen, wurde die Wasserphase erneut 4 mal mit n-Butanol ausgeschüttelt und die Butanolphase

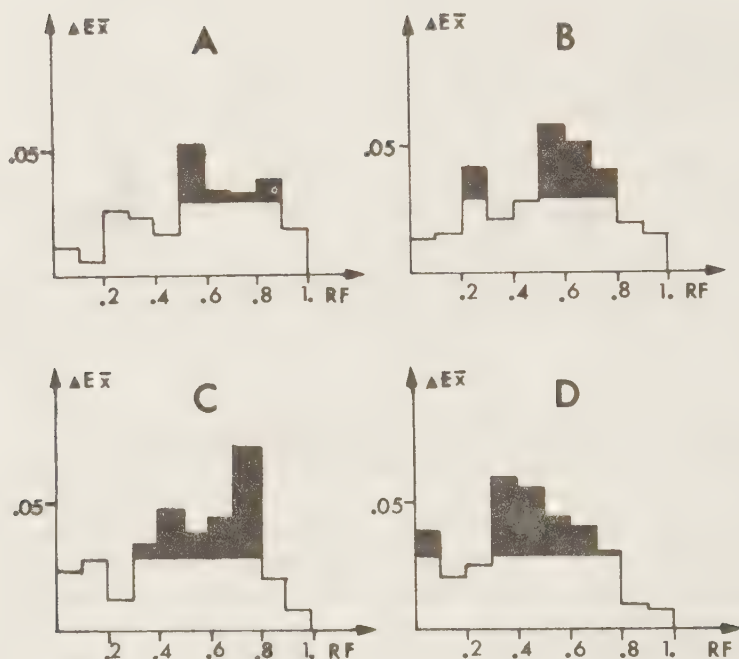


Abb. 17: A: Histogramm aus Kartoffelsprossen, Butanol-Phase
 B: " " " " H_2O -Phase
 C: " " " " Kartoffelwurzeln, Butanol-Phase
 D: " " " " H_2O -Phase

auf ihre Cytokininaktivität untersucht. Es konnte jedoch keinerlei Cytokininaktivität nachgewiesen werden, wohingegen in der Wasserphase nach wie vor Cytokininaktivität ermittelt wurde.

Es muß also davon ausgegangen werden, daß es sich hierbei um Cytokinine handelt, die zumindest bei pH 7.0 Butanol-unlöslich sind. Da die Wasserphase vor allem bei Extrakten aus Kartoffelsprossen stets stark verschmutzt war und ihre Untersuchung eine umfangreiche weitere Reinigung erforderte, war eine gemeinsame Untersuchung beider

Phasen nicht möglich. Aus Zeitgründen mußte sich die vorliegende Arbeit daher auf die Untersuchung der Butanol-löslichen Cytokinine beschränken.

e. Empfindlichkeit des Chlorophyllbildungstests gegenüber verschiedenen Cytokinin

Um die Empfindlichkeit des Chlorophyllbildungstests gegenüber verschiedenen, in höheren Pflanzen vorkommenden Cytokinin zu untersuchen, wurden für Zeatin, Zeatin-Ribosid, 2-Isopentenyladenin (2-IP) und 2-Isopentenyladenosin (2-IPA) Eichkurven erstellt.

Wie aus Abb. 18 ersichtlich, spricht der Biotest auf Zeatin und Zeatin-Ribosid gut an, hingegen ist seine Empfindlichkeit für 2-IP und für 2-IPA sehr viel geringer.

2.3 Einfluß der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität nicht-induzierter Kartoffelpflanzen

a. Auswirkung unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in Sproß und Wurzel

Um den Einfluß der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in den ober- und unterirdischen Pflanzenteilen zu untersuchen, wurden zwei Pflanzengruppen bis zu einem Alter von 27 Tagen mit kontinuierlichem N-Angebot angezogen. Danach wurde eine Gruppe (8 Pflanzen) für 6 Tage in eine N-freie Nährlösung überführt. Im Anschluß daran wurde für 3 Tage erneut N angeboten. Diese Gruppe wird bei allen im folgenden beschriebenen Versuchen als diskont. N bezeichnet werden. Die zweite Gruppe, bei allen im folgenden beschriebenen Versuchen als kont. N bezeichnet, verblieb als Kontrolle ständig in der vollständigen Nährlösung.

Die Probennahme erfolgte in der beschriebenen Weise nach dem in Abb. 19 dargestellten Schema, wobei stets zwei Pflanzen zu einer Probe vereinigt wurden.

Da eine sofortige Aufarbeitung des frischen Pflanzenmaterials dieses Versuches aus technischen Gründen nicht möglich war, wurden die Proben gefriergetrocknet und anschließend bei -30°C gelagert.

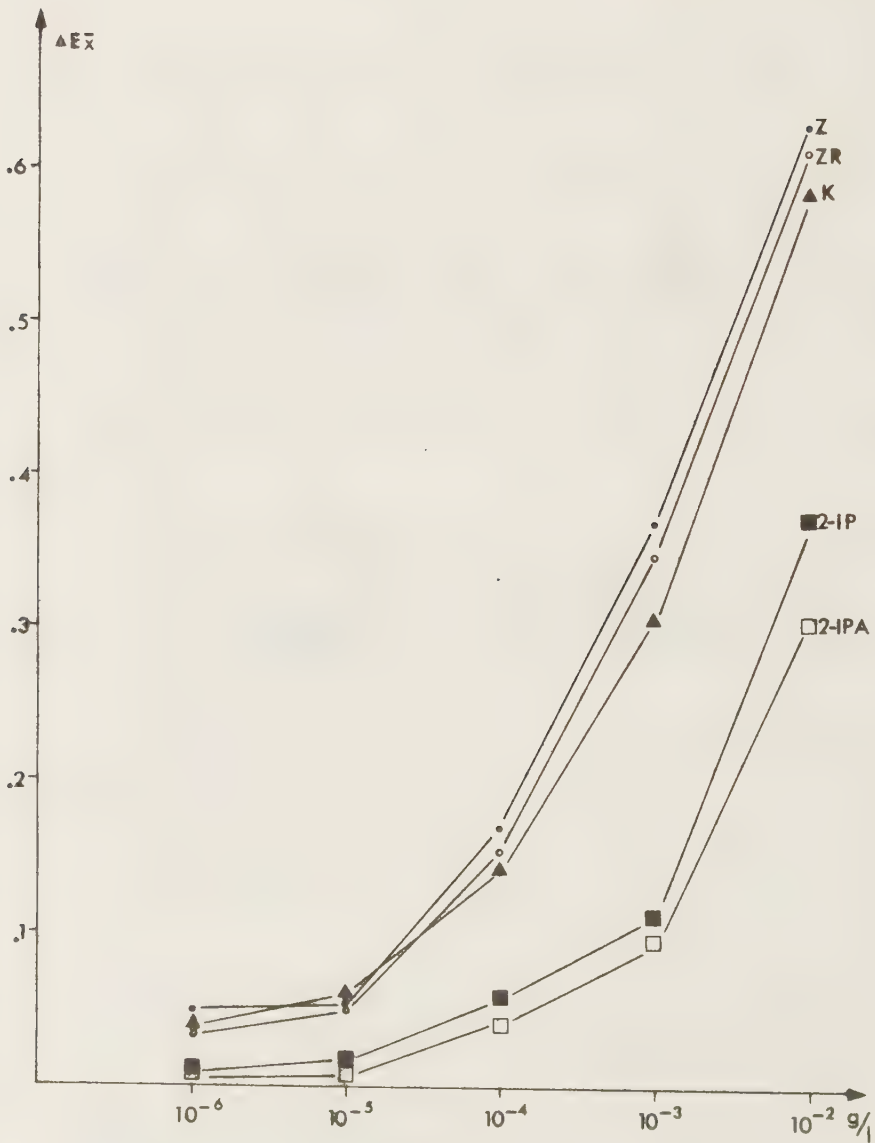


Abb. 18: Empfindlichkeit des Chlorophyllbildungstests gegenüber verschiedenen, in höheren Pflanzen vorkommenden Cytokinin. Z = Zeatin, ZR = Zeatin-Ribosid, K = Kinetin, 2-IP = Isopentenyladenin, 2-IPA = Isopentenyladenosin

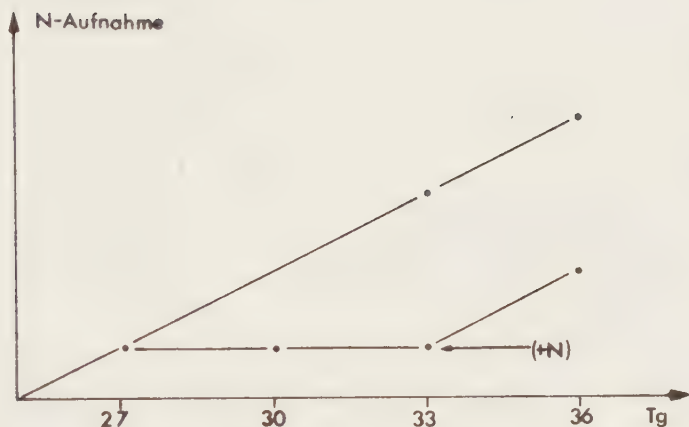


Abb. 19: Schema der Probennahme zur Untersuchung des Einflusses der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in den verschiedenen Pflanzenteilen

In den Sprossen, die gegen Ende der 6tägigen N-Entzugsphase zwar einen leicht gestauchten Wuchs, aber keinerlei Veränderung des Trockengewichts gegenüber kont. N aufwiesen, konnte, wie aus Abb. 20 ersichtlich, kein nennenswerter Einfluß der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität festgestellt werden.

Wie aus Abb. 21 ersichtlich, findet auch in den Wurzeln der kont. N-ernährten Pflanzen keine nennenswerte Veränderung der Cytokininaktivität statt. Überraschend hingegen war der vorübergehende starke Anstieg der Cytokininaktivität in den Wurzeln der diskont. N-ernährten Pflanzen in der Mitte der N-Entzugsphase.

Zur Überprüfung der im vorhergehenden Versuch gewonnenen Ergebnisse wurde zu einem späteren Zeitpunkt der oben beschriebene Versuch wiederholt. Diesmal wurde jedoch zum einen das Pflanzenmaterial ohne vorherige Gefriertrocknung extrahiert, und zum anderen auch bei der kontinuierlich N-ernährten Variante alle zwei Tage Proben entnommen.

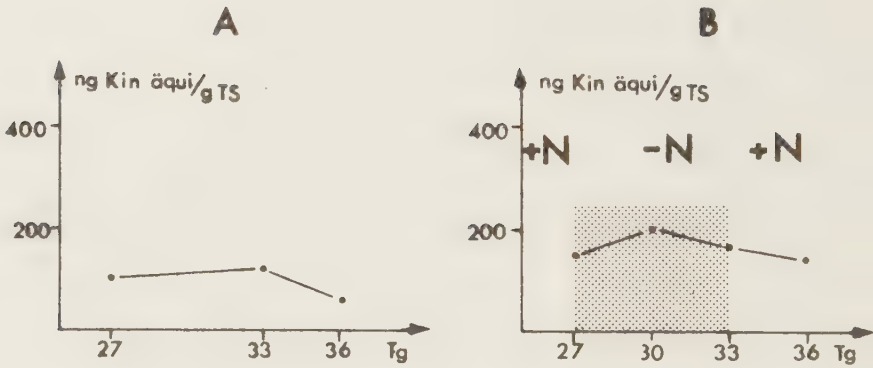


Abb. 20: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität im Sproß von nicht-induzierten Kartoffelpflanzen. A = kont. N; B = diskont. N (Da bei der ersten Ernte bei A und B unterschiedliche Pflanzen geerntet wurden, stimmen die Ausgangswerte nicht überein).

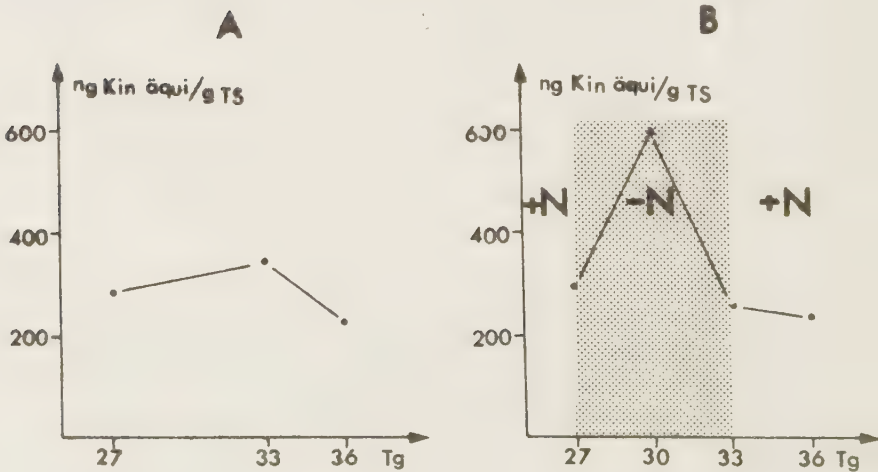


Abb. 21: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in den Wurzeln nicht-induzierter Kartoffelpflanzen. A = kont. N; B = diskont. N.

Wie aus Abb. 22 und Abb. 23 ersichtlich, konnten die im vorhergehenden Versuch gewonnenen Ergebnisse im wesentlichen bestätigt werden.

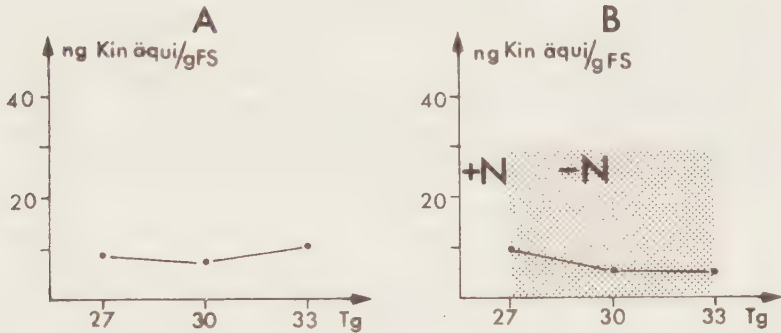


Abb. 22: Einfluß unterschiedlicher N- Ernährung auf die Cytokininaktivität im Sproß nicht-induzierter Kartoffelpflanzen. A = kont. N; B = diskont. N.

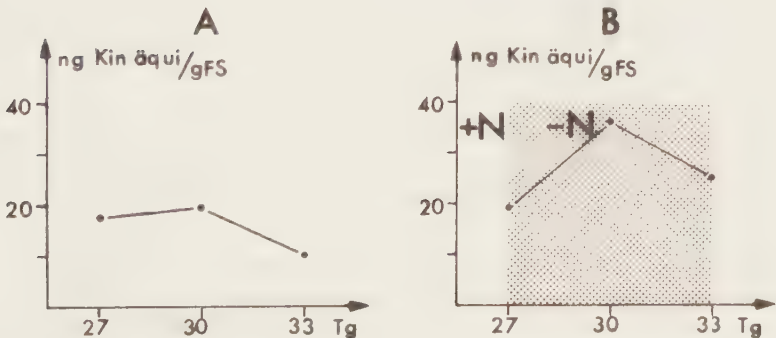


Abb. 23: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in den Wurzeln nicht-induzierter Kartoffelpflanzen. A = kont. N; B = diskont. N.

Bemerkenswert ist jedoch die in diesem Versuch klarer ausgeprägte Tendenz der Abnahme der Cytokininaktivität im Sproß bei der Variante diskont. N.

b. Auswirkung unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität im Exsudat

Für den Anstieg der Cytokininaktivität in den Wurzeln gegen Mitte der N-Entzugsphase gab es zwei mögliche Erklärungen:

1. eine verstärkte Biosynthese der Cytokinine
2. ein Stau der Cytokinine als Folge einer Verringerung der Verlagerung aus den Wurzeln in den Sproß.

Um nähere Information hierüber zu erhalten, wurden 2 Pflanzengruppen bis zu einem Alter von 26 Tagen gleichmäßig mit kontinuierlichem N-Angebot angezogen. Danach wurde eine Gruppe für 6 Tage in eine N-freie Nährlösung überführt (diskont. N) und anschließend erneut für 2 Tage mit N versorgt. Die zweite Gruppe wurde während des gesamten Versuchszeitraums kontinuierlich mit N versorgt (kont. N). Alle zwei Tage wurden je 3 Pflanzen einer Variante dekapitiert und das Exsudat während 24 Stunden gesammelt.

Während, wie Abb. 24 zeigt, die Cytokininaktivität im Exsudat bei den kontinuierlich mit N ernährten Pflanzen stetig steigt, sinkt die Aktivität im Exsudat bei N-Entzug rapide ab. Erneute N-Zufuhr läßt die Cytokininaktivität wieder steigen.

Diese Ergebnisse stimmen mit dem von Wagner (1970) beschriebenen Effekt der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität im Exsudat von Sonnenblumen recht gut überein. Während Wagner allerdings eine positive Korrelation zwischen Exsudationsleistung und Cytokininaktivität im Exsudat feststellte und daraus folgerte, daß bei einer Steigerung der Transpiration auch die Cytokininbiosynthese angeregt wird, konnte in der vorliegenden Untersuchung eine derartige Beziehung bei Kartoffelpflanzen nicht beobachtet werden. Dies verdeutlicht auch ein Vergleich der Exsudationsleistung der Pflanze (s. Abb. 25) mit der Cytokininaktivität im Exsudat (s. Abb. 24).

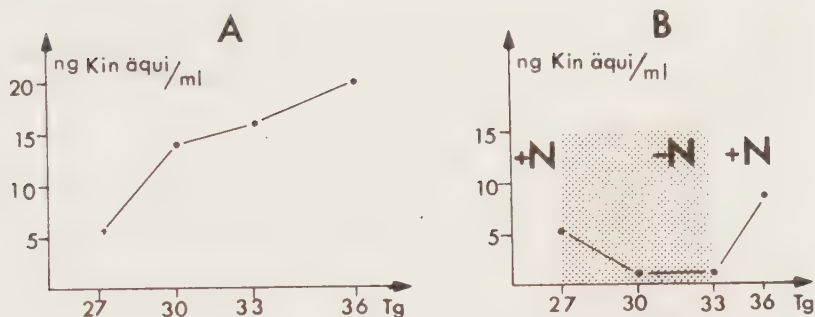


Abb. 24: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität im Exsudat nicht-induzierter Kartoffelpflanzen.
A = kont. N; B = diskont. N.

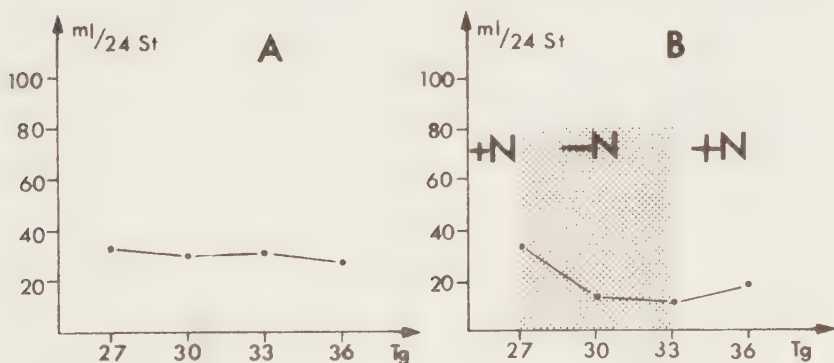


Abb. 25: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf die Exsudatsleistung bei nicht-induzierten Kartoffelpflanzen.
A = kont. N; B = diskont. N.

Diese Ergebnisse würden für die unter Punkt 2 dargelegte Möglichkeit sprechen, daß N-Entzug eine Verringerung des Cytokininexports aus der Wurzel in den Sproß und damit einen Stau der Cytokinine in der Wurzel

bewirkt. Träfe dies zu, dann müßte nach 24stündiger Exsudation bei den Pflanzen unter N-Entzug eine deutlich höhere Cytokininaktivität in den Wurzeln festzustellen sein, als in den Wurzeln der kontinuierlich N-versorgten Kontrollpflanzen.

Um dies zu überprüfen, wurden Wurzeln beider Varianten nach 24stündiger Exsudation extrahiert und auf ihre Cytokininaktivität untersucht. Wenngleich die ermittelten Werte nicht die erwarteten großen Unterschiede widerspiegeln (kont. N = 7.6 ng/g FS; diskont. N = 11 ng/g FS), so kann doch die höhere Cytokininaktivität in den Wurzeln der Variante diskont. N als Hinweis auf einen Stau von Cytokinin in infolge einer verringerten Verlagerung während der N-Entzugsphase gewertet werden. Bei der Bewertung dieser Ergebnisse sollte jedoch berücksichtigt werden, daß durch das Entfernen des Sprosses nach 24stündiger Exsudation in der Wurzel ganz sicher Prozesse ablaufen, die mit denen in der intakten Wurzel nicht mehr vergleichbar sind. So wäre etwa ein verstärkter Abbau der Cytokinine oder das Auftauchen von Inhibitoren, die die Cytokininaktivität maskieren, denkbar. Für die letztere Annahme gibt es in der Tat zwei Hinweise: zum einen die starke Hemmung im Bereich des RF 0.5-0.6 bei der Variante diskont. N (s. Abb. 26), zum anderen die Tatsache, daß selbst nach Addition der Cytokininaktivität im Exsudat die gewonnenen Werte ausgesprochen niedrig liegen.

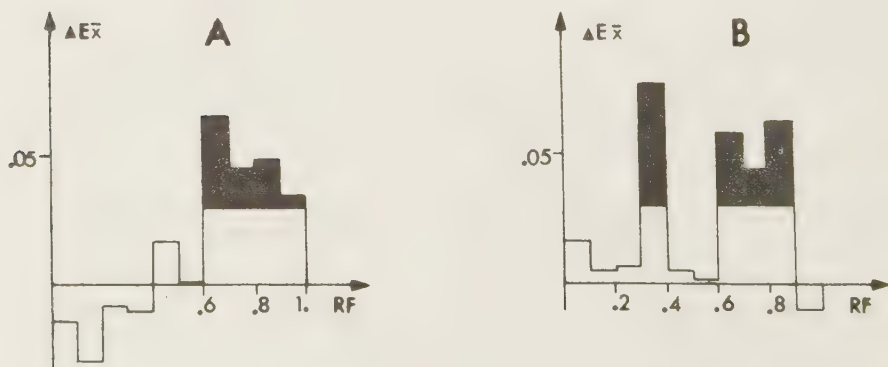


Abb. 26: Histogramme aus Wurzeln nicht-induzierter Kartoffelpflanzen nach 24stündiger Exsudation.
A = kont. N; B = diskont. N

2.1 Einfluß der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in Kartoffelpflanzen vor und nach der Knolleninduktion

Wie bereits ausgeführt, ruft N-Entzug bei Kartoffelpflanzen zum einen, wie auch bei anderen Pflanzen, Wachstumshemmungen und N-Mangelsymptome, zum anderen jedoch auch die Knolleninduktion hervor.

Gegenstand der bisherigen Untersuchungen war der Einfluß der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in den verschiedenen Pflanzenteilen nicht-induzierter Kartoffelpflanzen. Um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch die einsetzende Knolleninduktion auszuschließen, wurden junge Kartoffelpflanzen in der ersten Stickstoffentzugsphase gestaffelt geerntet. Knolleninduktion wurde bei diesen Pflanzen nicht beobachtet.

Aus den Arbeiten anderer Autoren ist bekannt, daß mit Einsetzen der Knolleninduktion quantitative und qualitative Veränderungen in der gesamten Pflanze stattfinden: das vegetative Wachstum kommt zum Stillstand, die Photosyntheseleistung steigt (Nösberger and Humphries, 1965), es entsteht ein neuer "Sink": die jungen Knollen.

Die folgenden Experimente sollten Aufschluß über Veränderungen im endogenen Cytokininspiegel in den verschiedenen Pflanzenteilen geben, die mit der durch N-Entzug ausgelösten Knolleninduktion einhergehen, bzw. durch sie hervorgerufen werden. Hierzu wurden Pflanzen verwendet, die aus physiologisch alten Knollen (Lagerzeit: 9 Monate bei Raumtemperatur im Dunkeln) gezogen wurden. Bei diesen Pflanzen tritt die Knolleninduktion rasch und gleichmäßig ein.

Die Pflanzenanzucht und Probenahme erfolgten nach dem in Abb. 27 dargestellten Schema. Dabei zeigte sich, daß bereits zwei Tage nach dem Überführen in N-freie Nährlösung 30 % und sieben Tage später 100 % der Pflanzen induziert waren. Eine Pflanze galt als induziert, wenn mindestens an einer Stolone eine Induktion visuell feststellbar war.

Bei einem Teil der Pflanzen wurde auch das Exsudat untersucht. Für diese Exsudatuntersuchung wurden bei der Variante kont. N jeweils drei, bei der Variante diskont. N wegen der zu erwartenden geringeren

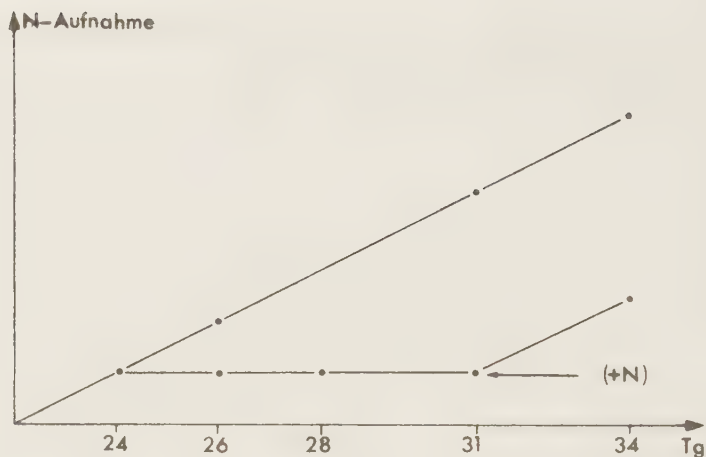


Abb. 27: Schema der Probennahme zur Untersuchung des Einflusses der N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in den verschiedenen Pflanzenteilen vor und während der Knollen-induktion

Exsudationsleistung jeweils fünf Pflanzen dekapitiert und das Exsudat während der folgenden 24 Stunden gesammelt. Die Wurzeln dieser für die Exsudatuntersuchung verwendeten Pflanzen wurden anschließend verworfen.

Außer Wurzeln und Sprossen, bei denen stets 3 Pflanzen zu einer Probe vereinigt wurden, erfolgte auch die Untersuchung der Stolonen spitzen bzw. der jungen Knollen. Hierzu wurden sämtliche Stolonen spitzen und Knollen von drei Pflanzen gemeinsam geerntet. Die Zahl der Stolonen und Knollen schwankte sehr stark. Im Durchschnitt hatte eine Pflanze zwischen 50 und 80 Stolonen, wovon jedoch stets nur bei einem kleinen Teil eine Induktion erfolgte. Bei der Variante kont. N konnte bei keiner Pflanze eine Induktion festgestellt werden.

Bei der Probennahme wurde darauf geachtet, daß der Prozentsatz der induzierten Pflanzen in der Probe stets dem in der Gesamtheit der Variante diskont. N entsprach.

a. Auswirkung unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität im Sproß

Auch bei den Pflanzen aus den in diesem Versuch verwendeten physiologisch alten Knollen konnte bei Angebot von kont. N die bereits aus vorhergehenden Versuchen bekannte leichte Abnahme der Cytokininaktivität in den Sprossen beobachtet werden ("Verdünnungseffekt"). Dagegen kam es bei den Pflanzen der Variante diskont. N gegen Ende der N-Entzugsphase zu einem überraschend steilen Anstieg der Cytokininaktivität (s. Abb. 28).

Während bei kont. N auch am Versuchsende noch keine Induktion beobachtet wurde, stieg bei diskont. N mit zunehmender Versuchsdauer die Anzahl der induzierten Pflanzen an, am Ende der 7tägigen N-Entzugsphase waren bei dieser Variante alle noch vorhandenen Pflanzen induziert. Erneute N-Zufuhr rief bei diskont. N zwar einen Abfall der Cytokininaktivität hervor, nicht aber ein "Durchwachsen" der Knollen.

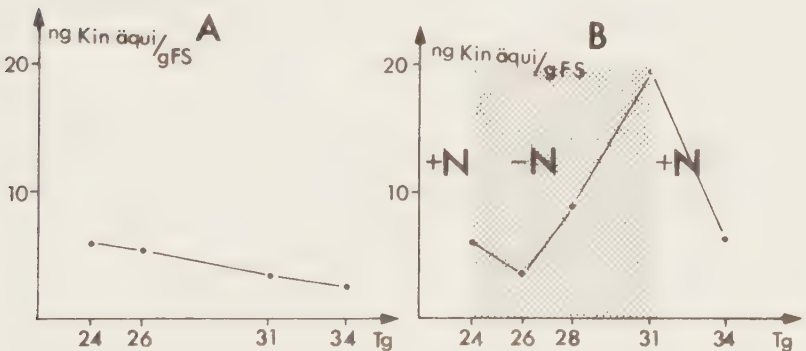


Abb. 28: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in Sprossen von Kartoffelpflanzen. A = Sprosse von kont. N-ernährten, nicht-induzierten Kartoffelpflanzen; B = Sprosse von diskont. N-ernährten, induzierten Kartoffelpflanzen

b. Vergleich von Butanol- und H_2O -löslichen Cytokinin in Sprossen vor und nach der Knolleninduktion

Bereits in vorangegangenen Versuchen war ein Anstieg der Cytokininaktivität im Sproß nach Eintritt der Induktion beobachtet worden.

Hierfür gibt es zwei mögliche Erklärungen:

1. eine verstärkte Neusynthese. Das ist jedoch recht unwahrscheinlich, da gleichzeitig mit dem Anstieg im Sproß die Cytokininaktivität im Exsudat stark abnimmt und die Wurzeln nach wie vor als der Hauptsyntheseort für Cytokinine angesehen werden müssen.
2. eine Verschiebung innerhalb des Cytokininspektrums. Aus Vorversuchen war bekannt (s. S. 43ff.), daß eine recht bedeutende Menge an Cytokinin bei pH 7.0 nicht in die Butanol-Phase übergeht, sondern in der Wasser-Phase verbleibt. Es ist nun denkbar, daß mit Eintritt der Knolleninduktion Veränderungen im Cytokininspektrum stattfinden, die die Butanol-Löslichkeit der Cytokinine verbessern.

Um hierüber nähere Informationen zu erhalten, wurden auch die H_2O -Phasen nicht-induzierter und induzierter Sprossen untersucht. Wie aus Abb. 29 ersichtlich, sinkt die Cytokininaktivität in der Wasser-Phase mit Eintritt der Knolleninduktion stark ab; gleichzeitig steigt die der Butanol-Phase an. Diese Verschiebung erfolgte zwar nicht quantitativ, ist aber eindeutig.

c. Auswirkung der unterschiedlichen N-Ernährung auf die Cytokininaktivität in den Wurzeln

Die Untersuchung der Cytokininaktivität in den Wurzeln ergab gegenüber den vorhergehenden Versuchen mit nicht-induzierten Pflanzen (s. S. 45f.) keine anderen Ergebnisse. Wie aus Abb. 30 ersichtlich, findet bei kont. N mit fortschreitendem Alter der Pflanzen eine Abnahme der Cytokininaktivität statt, wohingegen in den Wurzeln der in N-freier Nährlösung übertragenen Pflanzen (diskont. N) nach 4 bzw. 6 Tagen, also zu einem Zeitpunkt, da ca. 50 bzw. 100 % der Pflanzen induziert sind, ein vorübergehender, steiler Anstieg der Cytokininaktivität zu beobachten ist. Erneute N-Zufuhr bewirkte einen starken Abfall der Cytokininaktivität. Wie ein Vergleich der Abb. 23 und 30 zeigt, ist bei diskont. N der Verlauf der Cytokininaktivität in den Wurzeln bei den nicht-induzierten Pflanzen (Abb. 23) und den induzierten Pflanzen (Abb. 30) praktisch gleich, ein Knolleninduktions-

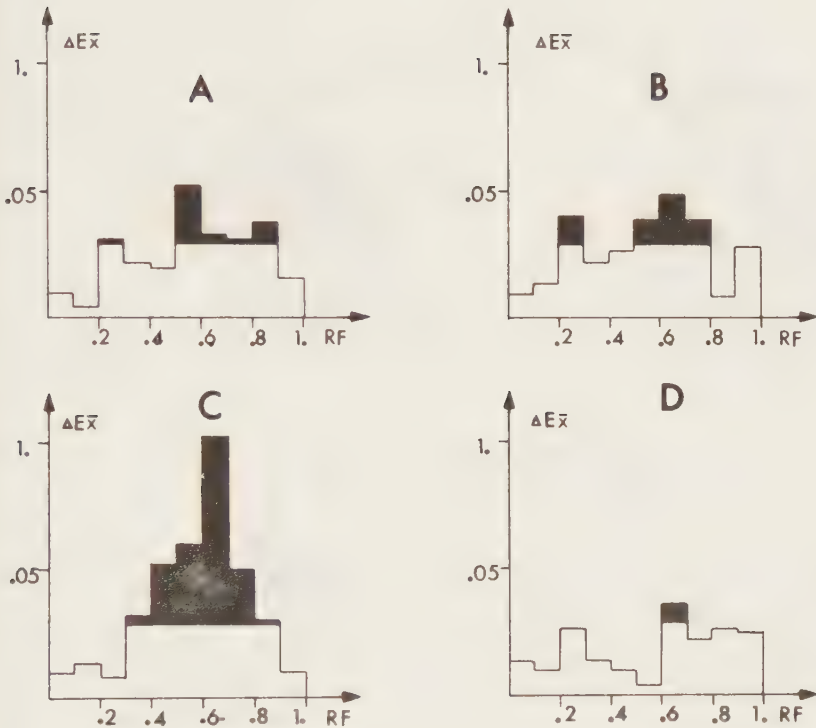


Abb. 29: Einfluß der Knolleninduktion auf die Butanol-Löslichkeit der Cytokinine aus Sprossen von Kartoffelpflanzen
 A: Histogramm der Butanol-Phase (nicht-induziert)
 B: " " H₂O-Phase (" " " ")
 C: " " Butanol-Phase (induziert)
 D: " " H₂O-Phase (" " ")

effekt, wie er bei den Sprossen beobachtet wurde, konnte also für die Wurzeln nicht festgestellt werden.

In einem weiteren Versuch wurden Kartoffelpflanzen der Variante diskont. N zu folgenden Zeitpunkten geerntet: nicht-induziert; Beginn der Induktion, sowie 2, 3 und 4 Tage nach Eintritt der Induktion. Im Gegensatz zu dem oben beschriebenen Versuch (s. Abb. 30), wurden jedoch die Stolonen- und Knollen nicht gesondert geerntet,

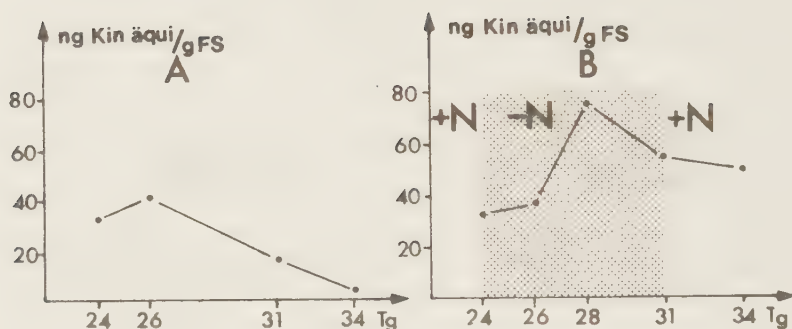


Abb. 30: Cytokininaktivität in Wurzeln von Kartoffelpflanzen
 A: kont. N, nicht-induziert
 B: diskont. N, induziert

sondern verblieben in der Wurzelfraktion. Es zeigte sich, daß in dieser Mischprobe mit zunehmender Knolleninduktion die Cytokininaktivität abnimmt ("Verdünnungseffekt"), und außerdem, daß nach Eintritt der Induktion im Bereich des RF 0.6 die biologische Aktivität gehemmt wurde (s. Abb. 31). Die Vermutung, daß mit Eintritt der Knolleninduktion in den jungen Knollen ein Inhibitor auftritt, der in dem verwendeten System im Bereich des RF 0.6 läuft und das Ergrünen der Gurkenkotyledonen verhindert, liegt nahe.

d. Veränderungen im Verhältnis der Cytokininaktivität von Sproß und Wurzel als Folge der Knolleninduktion

Der bereits aus vorhergehenden Versuchen (Abb. 28) bekannte starke Anstieg der Cytokininaktivität im Sproß nach Eintritt der Knolleninduktion konnte auch bei diesem Versuch beobachtet werden (s. Abb. 32). Durch diesen Vorgang kann der Fall eintreten, daß die Cytokininaktivität im Sproß vorübergehend höher ist als die in den Wurzeln (Abb. 33). Diese Verschiebung der Cytokininaktivität zugunsten des Sprosses ist besonders zu Beginn des Knollenwachstums ausgeprägt. Wird durch erneute N-Zufuhr das "Durchwachsen" der Knolle angeregt, so sinkt die Cytokininaktivität im Sproß auf ihren Ausgangswert.

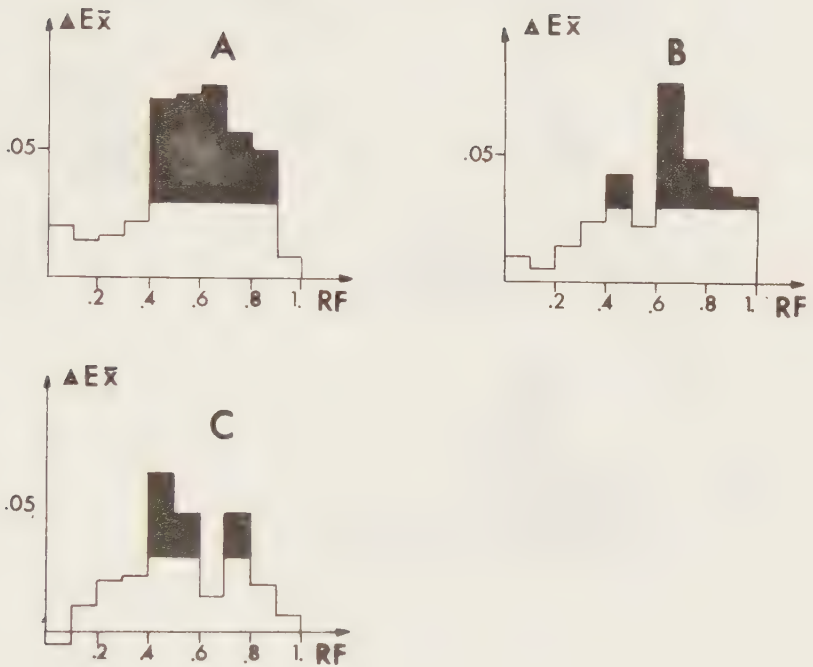


Abb. 31: Histogramm aus Extrakten der unterirdischen Organe von Kartoffelpflanzen (Wurzeln und Stolonen bzw. Knollen) zu verschiedenen Erntezeitpunkten.

A: nicht-induziert
B: Beginn der Induktion
C: drei Tage nach Induktion

Die in den Vorversuchen getroffene Feststellung, die Cytokininaktivität nehme in den einzelnen Pflanzenorganen in der Reihenfolge Stolonen bzw. Knollen, Wurzeln, Sproß, ab, trifft also uneingeschränkt nur für nicht-induzierte Pflanzen zu.

e. Auswirkung der unterschiedlichen N-Ernährung auf die Cytokininaktivität im Exsudat

Die Gewinnung des Exsudats erfolgte in der beschriebenen Weise (s. S. 17f.). Dabei nahm unerwartet die Exsudationsleistung der Wurzeln

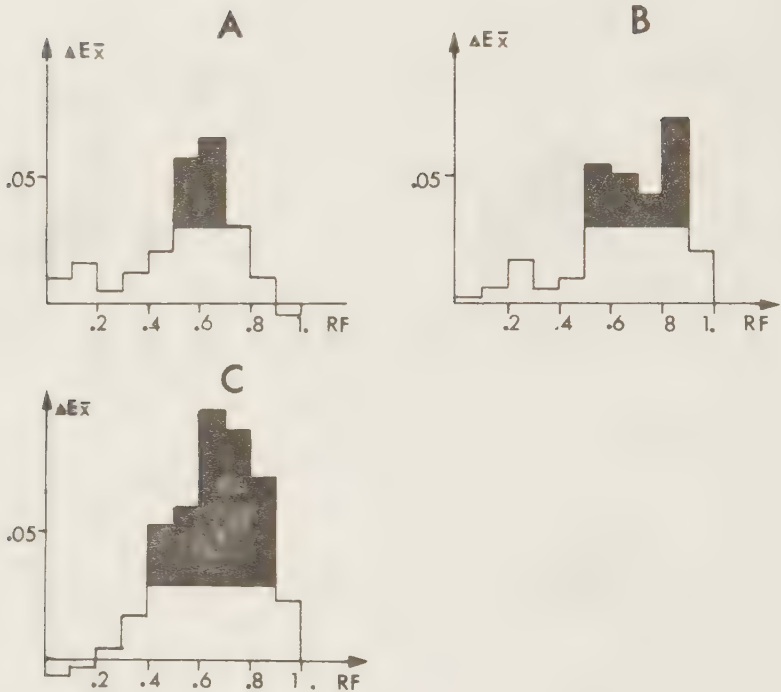


Abb. 32: Einfluß der durch N-Entzug ausgelösten Knolleninduktion auf die Cytokininaktivität im Sproß
A: nicht-induziert
B: Beginn der Induktion
C: drei Tage nach Induktion
(Es wurde jeweils 30 g FS getestet)

nicht nur bei den in N-freier Nährlösung gehaltenen, sondern auch bei den als Kontrolle dienenden Pflanzen der Variante kont. N ab, wenn auch nicht in demselben Maße (s. Abb. 34). Vermutlich ist hierfür das hohe physiologische Alter der Mutterknollen verantwortlich, aus denen die Pflanzen angezogen wurden. Derartige Pflanzen altern schneller, was ein Absinken der Stoffwechselintensität in den Wurzeln zur Folge hat.

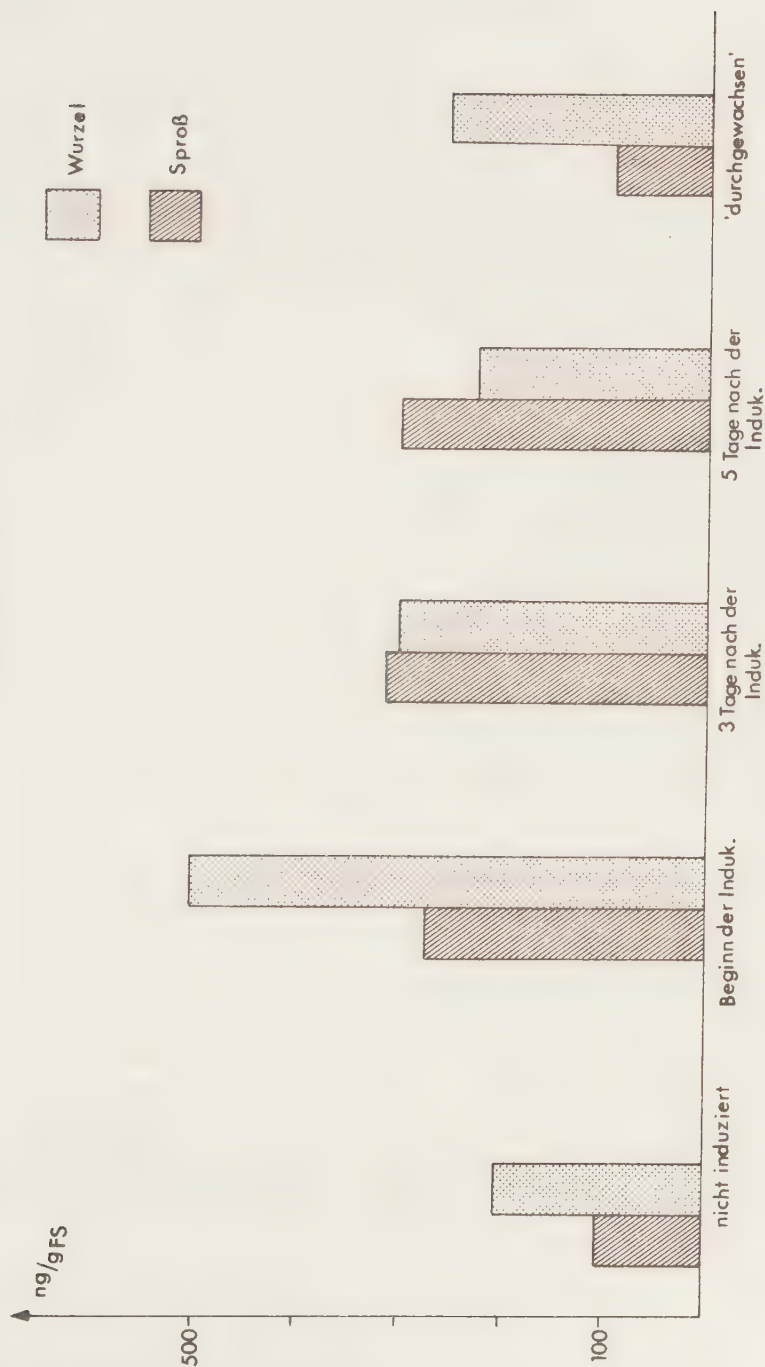


Abb. 23: Einfluß der durch diskontinuierliche N-Ernährung ausgelösten knolleninduktion auf die Cytokininaktivität im Sproß und in der Wurzel

Wie die Untersuchung der Cytokininaktivität im Exsudat zeigte, findet bei den kontinuierlich N-ernährten Pflanzen ein stetiger Anstieg der Cytokininaktivität auch bei gleichzeitiger Abnahme der Exsudatmenge statt (vgl. Abb. 34 und 35). Es läßt sich also, wie bereits erwähnt (s. S. 50), bei Kartoffelpflanzen eine positive Korrelation zwischen Exsudatmenge und Cytokininaktivität im Exsudat, wie sie Wagner (1970) für Sonnenblumen beschrieb, nicht zweifelsfrei feststellen.

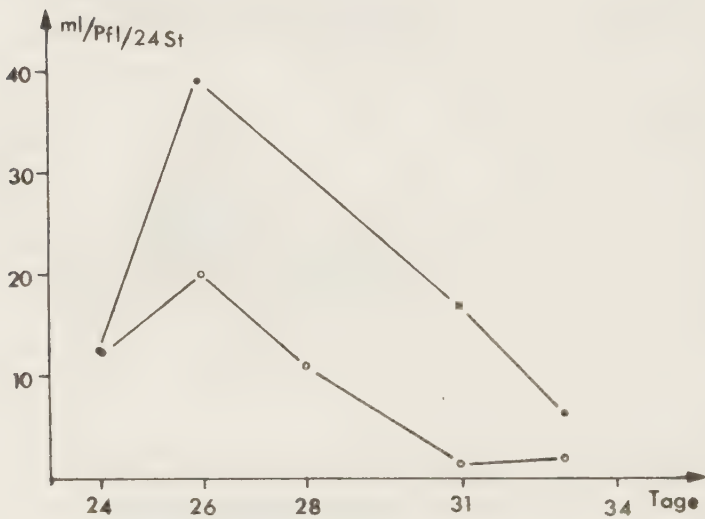


Abb. 34: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf die Exsudatleistung von Kartoffelwurzeln
-●- kont. N
-○- diskont. N

Erwartungsgemäß sinkt die Cytokininaktivität des Exsudats der Variante diskont. N ab (nach 7 Tagen N-Entzug ist sie unter die Nachweisgrenze des Biotests gesunken), um nach erneuter N-Zufuhr wieder anzusteigen (Abb. 35).

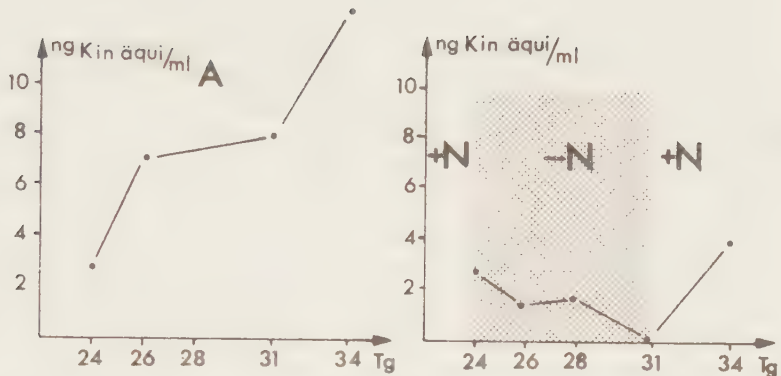


Abb. 35: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung von Kartoffelpflanzen auf die Cytokininaktivität im Exsudat
A: kont. N, nicht-induziert
B: diskont. N, induziert

Wie ein Vergleich der Abb. 24 und 35 zeigt, gibt es keinen besonderen Einfluß der Knolleninduktion auf die Cytokininaktivität im Exsudat; N-Entzug führte in beiden Experimenten zu einer starken Reduzierung der Cytokininaktivität.

f. Einfluß von N-Entzug und Knolleninduktion auf die Cytokininaktivität im Spross, Exsudat und Wurzel

Wie die in Abb. 36 vorgenommene Gegenüberstellung der bisher dargestellten Untersuchungen zeigt, läßt sich nur in der Cytokininaktivität des Sprosses eine Reaktion der Pflanze auf die durch N-Entzug ausgelösten Knolleninduktionen nachweisen, und zwar in Form des starken Anstiegs mit zunehmender Dauer des N-Entzugs während der Phase der Knolleninduktion.

g. Veränderungen der Cytokininaktivität in Stolonen und Knollen vor und nach der Knolleninduktion

Bei der Ernte wurden sämtliche Stolonenspitzen (ca. 1 cm) und jungen Knollen, die sich an einer Pflanze befanden, gemeinsam geerntet und

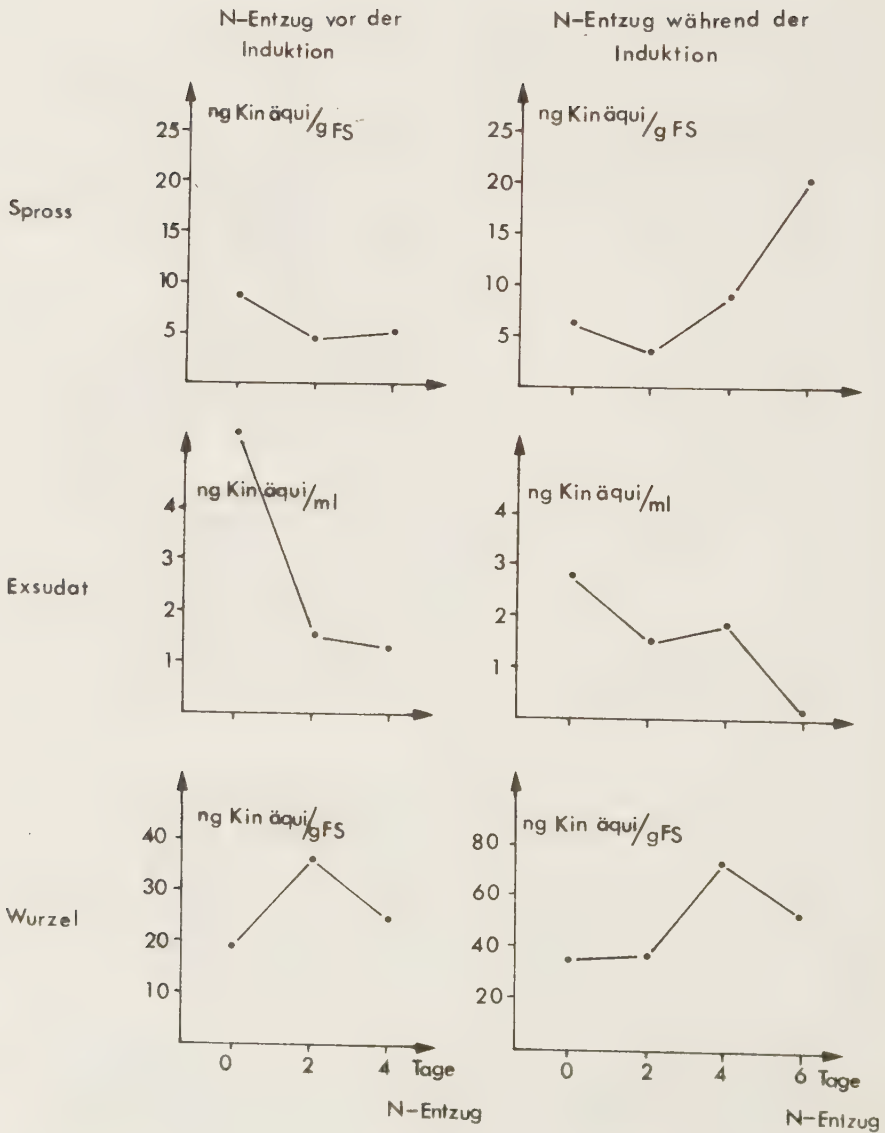


Abb. 36: Einfluß von N-Entzug vor und nach der Knolleninduktion auf die Cytokininaktivität in Sproß, Exsudat und Wurzeln von Kartoffelpflanzen

extrahiert. Da bei Kartoffelpflanzen meist nur ein kleiner Prozentsatz der Stolonen induziert ist, handelte es sich bei den untersuchten Extrakten um echte Mischproben, die aus Stolonen sowie jüngeren und älteren Knollen bestanden. Wie aus Abb. 37 ersichtlich, findet bei den von der Variante kont. N geernteten Stolonen, die auch am Schluß des Versuches keine Induktion zeigten, eine stetige Abnahme der Cytokininaktivität statt. Ein anderes Ergebnis wird dagegen bei den Pflanzen erhalten, bei denen durch N-Entzug die Knolleninduktion ausgelöst wurde. Zwei Tage nach Versuchsbeginn sind hier 30 %, nach vier Tagen 50 % und nach sieben Tagen 100 % der Pflanzen induziert. Erneute N-Zufuhr verursachte in diesem Versuch nicht das "Durchwachsen" der jungen Knollen, sondern beschleunigte - wie aus dem starken Anstieg des Durchschnittsgewichts der Stolonen und Knollenproben ersichtlich (Abb. 38) - deren Wachstum. Mit der fortschreitenden Anzahl der induzierten Stolonen bzw. Knollen in den Proben findet ein vorübergehend starker Anstieg der Cytokininaktivität statt (vgl. Abb. 37). Der Abfall der Cytokininaktivität gegen Mitte der N-Entzugsphase, zu einem Zeitpunkt, da 50 % der Pflanzen induziert sind, läßt sich weitgehend als Verdünnungseffekt deuten, da gleichzeitig das Knollengewicht (Abb. 38) stark ansteigt. Wird als Bezugsgröße nicht die Frischsubstanz, sondern die Knolle als Organ gewählt, so findet, wie Abb. 39 zeigt, ein stetiger Anstieg der Cytokininaktivität in den wachsenden Knollen statt.

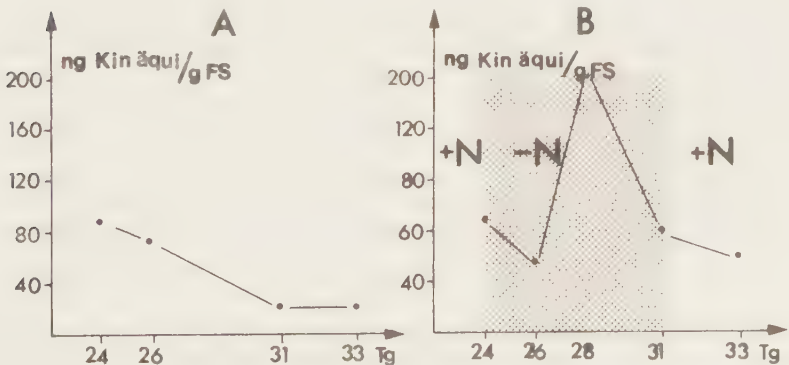


Abb. 37: Einfluß der durch N-Entzug ausgelösten Knollerinduktion auf die Cytokininaktivität in Stolonen bzw. Knollen
A: diskont. N, nicht-induziert
B: diskont. N, induziert

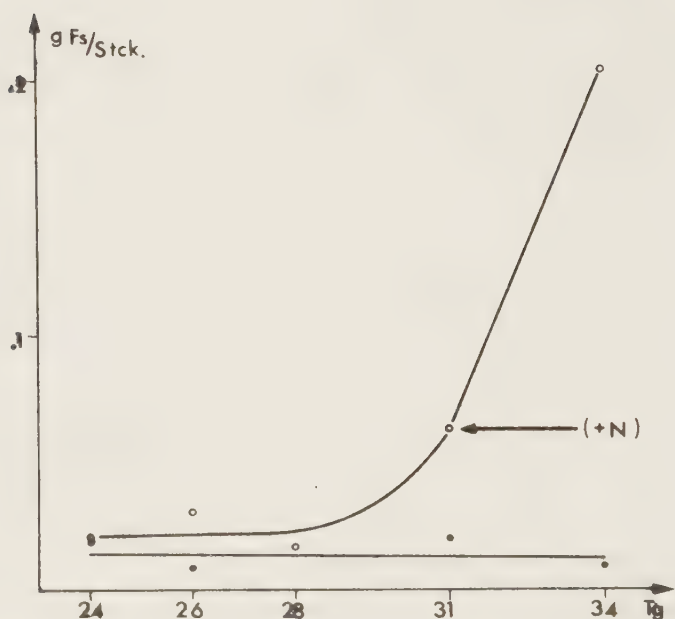


Abb. 38: Durch Knolleninduktion ausgelöste Zunahme des Frischgewichts der einzelnen Stolonen bzw. Knollen
 -●- nicht-induzierte Stolonen von Pflanzen mit kont. N
 -○- Stolonen bzw. Knollen von induzierten Pflanzen mit diskont. N

h. Cytokininspektrum in Stolonen bzw. Knollen vor und nach der Knolleninduktion

Der Eintritt der Knolleninduktion ruft in den Stolonen nicht nur quantitative Veränderungen der Cytokininaktivität, sondern auch qualitative Veränderungen des Cytokininspektrums hervor.

Während bei den nicht-induzierten Stolonen stets die Fraktion mit RF 0.4-0.5 die Hauptaktivität enthält oder gar die einzige im Bio-test aktive Zone darstellt, ist bei den jungen Knollen die Hauptaktivität im Bereich des RF 0.7-0.9 lokalisiert (Abb. 40).

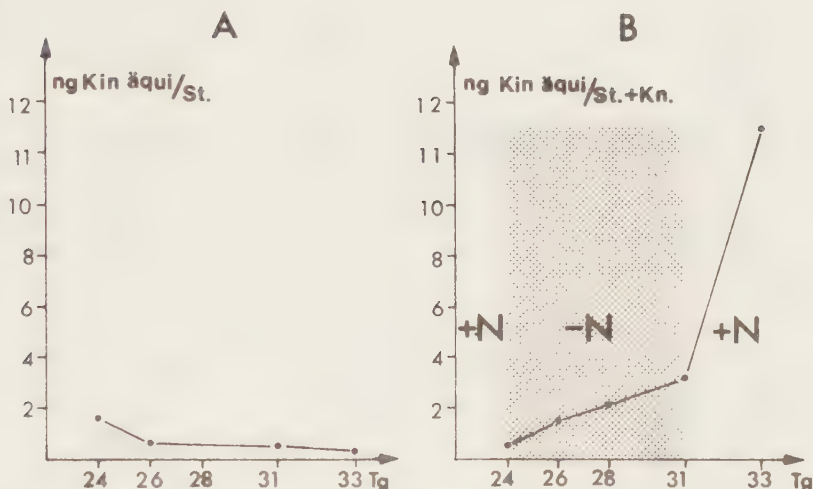


Abb. 39: Einfluß der durch N-Entzug ausgelösten Knolleninduktion auf die Cytokininaktivität in Stolonen (St) bzw. Knollen (Kn); Bezugsgröße: Stolone bzw. Knolle
A: Stolonen von Pflanzen mit kont. N
B: Stolonen und Knollen von Pflanzen mit diskont. N

Wie bereits beschrieben, handelt es sich bei den bisher untersuchten Proben um ein Gemisch aus nicht-induzierten Stolonen und Knollen verschiedenen Alters und Durchmessers. Um nähere Informationen über die in den Stolonen bzw. jungen Knollen ablaufenden Veränderungen des Cytokininspektrums zu erhalten, wurden in einem weiteren Versuch Knollen mit definiertem Durchmesser geerntet und auf ihre Cytokininaktivität untersucht. Dabei wurden folgende Proben genommen:
nicht-induzierte Stolonen; Stolonen zum Beginn der Induktion; Knollen $\varnothing$ 4-6 mm; Knollen $\varnothing$ 8-10 mm; und Knollen $\varnothing$ 13-15 mm. Außerdem wurden Knollen $\varnothing$ 4-6 mm untersucht, die durch plötzliches hohes N-Angebot zum "Durchwachsen" angeregt worden waren.

Wie aus Abb. 41 ersichtlich, treten die bereits oben beschriebenen qualitativen Veränderungen des Cytokininspektrums jetzt wesentlich deutlicher zutage. Interessanterweise scheinen diese Veränderungen

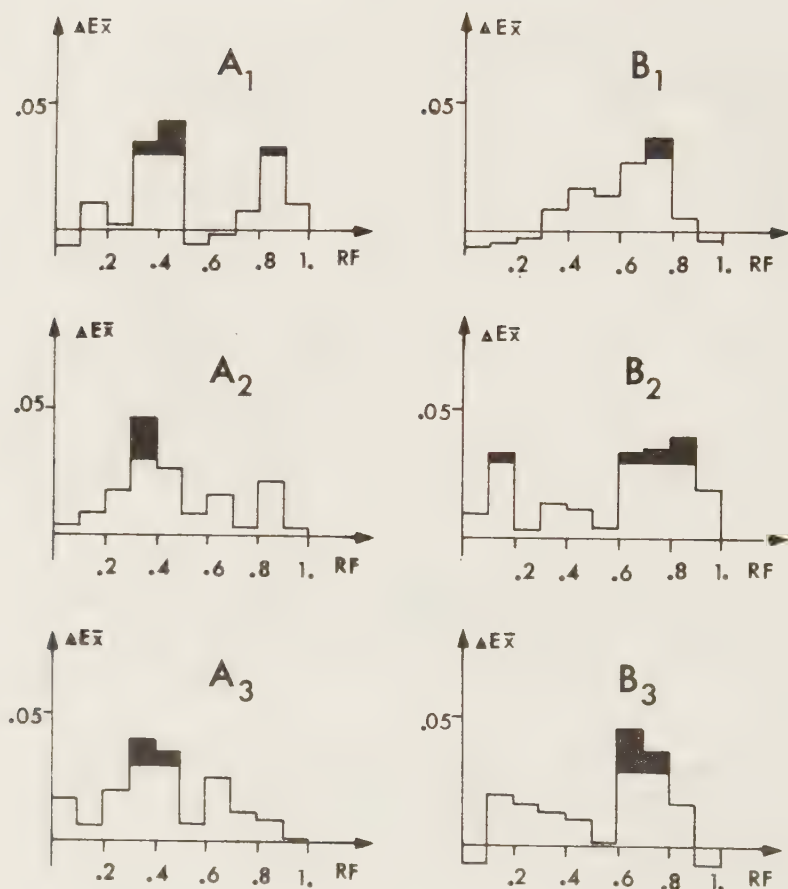


Abb. 40: Einfluß der durch N-Entzug ausgelösten Knolleninduktion auf das Cytokininspektrum in Stolonen bzw. Knollen
 A: Histogramme aus nicht-induzierten Stolonen
 3 Pflanzen (A₁-A₃), zum gleichen Zeitpunkt geerntet
 B: Histogramme aus jungen, wachsenden Knollen
 3 Pflanzen (B₁-B₃), zum gleichen Zeitpunkt geerntet

reversibel zu sein, wenn durch hohe N-Zufuhr das "Durchwachsen" der Knollen hervorgerufen wird. In diesem Fall zeigt sich ein Histogramm vergleichbar mit dem von nicht-induzierten Stolonen (s. Abb. 41).

ng Kin äqui/g FS

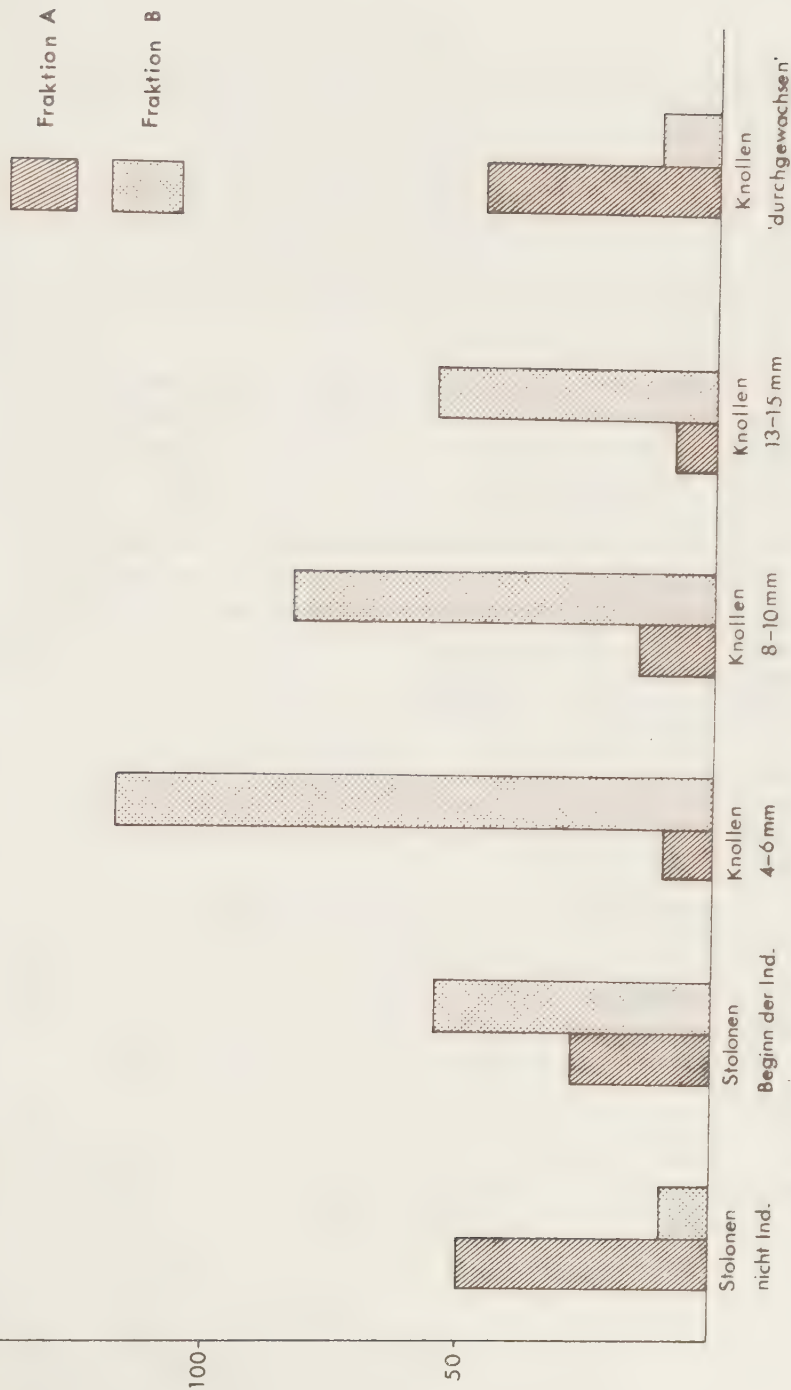


Abb. 41: Veränderungen im cytokininspektrum von stolonen und knollen im verlauf der durch N-Entzug ausgelösten holleinduktion. Fraktion A: 0,4-0,6; Fraktion B: 0,6-0,9

3. Versuche zur Lokalisierung der Reizaufnahme des Faktors N-Ernährung

3.1 Problemstellung

Während bei den bisher dargestellten Versuchen ausschließlich die Wirkung der Stickstoffernährung bzw. der hierdurch ausgelösten Knolleninduktion auf den endogenen Cytokininspiegel in den verschiedenen Pflanzenorganen im Mittelpunkt stand, so war der Wirkungsmechanismus des Faktors N-Ernährung auf die Knolleninduktion Gegenstand der folgenden Untersuchung.

Ausgangspunkt der Überlegung war, daß allen bisher vorliegenden Literaturergebnissen zufolge der die Knolleninduktion auslösende Stimulus aus dem Sproß kommt. Während die hierzu erschienenen Publikationen sich nahezu ausschließlich mit dem Faktor Tageslänge beschäftigten, für den die oberirdischen Sproßorgane den unmittelbaren Reizrezeptor darstellen, galt das Interesse der vorliegenden Arbeit dem Faktor Stickstoffernährung. Sollte der Sproß hierfür ebenfalls der Ort sein, aus dem der die Induktion auslösende Stimulus kommt, so müßte er die Information über das jeweilige Stickstoffangebot aus den Wurzeln erhalten. Dies wäre auf zwei Wegen möglich:

1. Die Wurzel fungiert als Reizüberträger. Wird die Pflanze in ein N-freies Nährmedium übertragen, so kann sie den Sproß nicht mehr in ausreichendem Maße mit N versorgen. Die schlechte N-Versorgung wäre das auslösende Moment. In diesem Falle wäre der Sproß Reizrezeptor, die Wurzel würde ausschließlich die Rolle eines Aufnahme- und Transportorgans für N spielen.
2. Die Wurzel ist Rezeptor für den Faktor N-Ernährung. Sie transformiert den jeweiligen N-Ernährungszustand in eine hormonelle Information (z.B. Cytokinine), die nach Transport in den Sproß dort die endogenen Veränderungen auslöst, welche zur Knolleninduktion führen. In diesem Zusammenhang sind die gewonnenen Ergebnisse über die Veränderung der Cytokininaktivität als Folge der diskontinuierlichen N-Ernährung in den verschiedenen Pflanzenorganen und im Exsudat von besonderem Interesse.

Darüberhinaus kann auch eine weitere Möglichkeit zumindest für den Faktor N-Ernährung nicht ausgeschlossen werden:

3. Die Wurzel ist nicht nur Rezeptor des Reizes N-Ernährung, sondern aus ihr kommt gleichzeitig der die Knolleninduktion auslösende Stimulus.

Über diese drei Möglichkeiten sollten die folgenden Experimente. weitergehende Informationen liefern.

Fungiert die Wurzel - wie unter Punkt 1 dargestellt - lediglich als Reizüberträger, so müßte durch N-Zufuhr über die Blätter z.B. in Form von Harnstoff bei gleichzeitigem Angebot einer N-freien Nährlösung die Knolleninduktion verhindert werden können. Sollte jedoch die Wurzel, wie unter Punkt 2 dargelegt, den jeweiligen N-Ernährungszustand in Form einer hormonellen Information an den Sproß weitergeben, so müßte die Knolleninduktion trotz der Blattdüngung mit N stattfinden. Da N (vor allem als Amino- und Amid-N) in der Pflanze jedoch leicht mobil ist, müßte die Verlagerung von N aus den Blättern in die Wurzel unterbunden werden. Dies sollte über Ringelung der Sprosse ca. 15 cm oberhalb der Stolonen geschehen. Die sich bei dieser Behandlung unter induktiven Bedingungen bildenden Luftknollen sollten als "Modellinduktionen" dienen. Sollte hingegen, wie unter Punkt 3 dargelegt, der Stimulus aus den Wurzeln kommen, so müßte trotz der Ringelung eine Induktion der Stolonen erfolgen.

3.2 Vorversuche

In Vorversuchen erwies sich für die Blattspritzung eine Harnstoffkonzentration von 0.1 % als hoch genug, um die Pflanzen in ausreichendem Maße mit N zu versorgen. Bei dieser Konzentration kam es auch - abgesehen von leichten Blattrandnekrosen - zu keinen Schädigungen der Pflanzen. Es erwies sich als zweckmäßig, nach dem Spritzen (die Applikation erfolgte mittels einer Blumenspritze) die sich bildenden Tropfen mit Kleenex abzutupfen, um eine durch Verdunstung erfolgte Konzentrierung vor allem an den Blatträndern einzuschränken.

Auffällig war, daß die Pflanzen mit Harnstoffzufuhr über die Blätter zwar dunkelgrün waren, ansonsten aber den Habitus von N-Mangelpflanzen aufwiesen: gestauchter Wuchs und kleine Blätter (Abb. 42). In einem weiteren Versuch sollte geklärt werden, ob sich nach der Ringelung



Abb. 43: Auswirkung unterschiedlicher N-Ernährung auf den
Wachstum von Kartoffelpflanzen
links: Kontroll-N
Mitte: Diskont. N (9 Tage N-Eintrug)
rechts: Diskont. N (vgl. Mitte), aber gleichzeitig
Stickstoffdüngung über die Blätter

bei Pflanzen mit Diskont. N Luftknollen bilden. Hierzu wurden die
Stängel der Pflanzen mit einer Rasierklinge ringsum eingekerbt. Da
Kartoffeln wie alle Solanaceen bikollaterale Leitbündel besitzen,
musste die Einkerbung einerseits recht tief sein, andererseits sollte
eine zu starke Schädigung der Pflanzen vermieden werden.

Bereits nach 7 Tagen zeigten alle 5 geringelten Pflanzen oberhalb
der Ringelungsstellen Luftknollen unterschiedlicher Größe (Abb. 43).
Auffallend war jedoch, daß es bei allen Pflanzen auch an den Stolonen
zur Knolleninduktion kam. Obwohl die Ringelung so tief war, daß ein
unipolärer Holzer-Transport sowohl von Hormonen als auch von Assimila-
ten ausgeschlossen werden kann (Abb. 44), wuchsen die Knollen an
den Stolonen doch zu beachtlicher Größe heran; im Durchschnitt betrug
nach 9 Tagen N-Eintrug ihr Durchmesser 2 cm.

Dieses Ergebnis darf jedoch keineswegs zu weitgehend interpretiert
werden, da die Pflanzen erst geringelt wurden, nachdem sie bereits
einer sonstigen N-Eintrugphase und einer anschließenden 7tägigen N-
aufnahmepause ausgesetzt waren. In diesem Fall könnte eine physio-

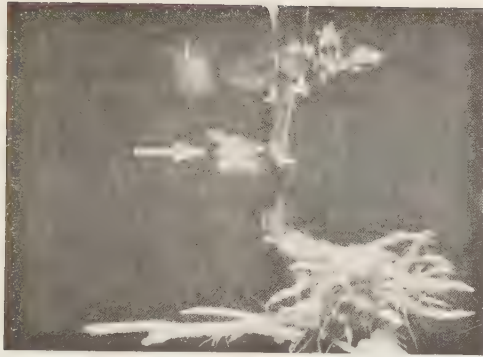


Abb. 43: Durch Ringelung hervorgerufene Bildung von Luftknollen bei Pflanzen mit diskont. N

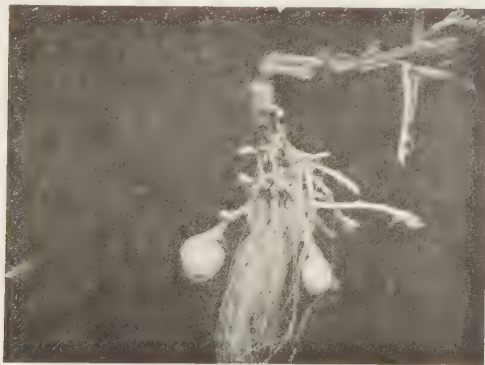


Abb. 44: Durch N-Entzug ausgelöste Knolleninduktion 9 Tage nach Unterbrechung des basipedalen Transports durch Ringelung

logische Umsteuerung in den Stolonenspitzen in Richtung Knolleninduktion bereits vor der Ringelung stattgefunden haben.

Mikroskopische Schnitte des Stengels dieser in Abb. 44 abgebildeten Pflanze oberhalb und unterhalb der Ringelungsstelle zeigen deutlich

eine Anhäufung von Stärke oberhalb der Ringelungsstelle und ein völliges Fehlen von Stärke unterhalb der Ringelungsstelle (Abb. 45); unterhalb der Ringelungsstelle wurde offensichtlich die ursprünglich vorhandene Stärke für das Knollenwachstum mobilisiert.

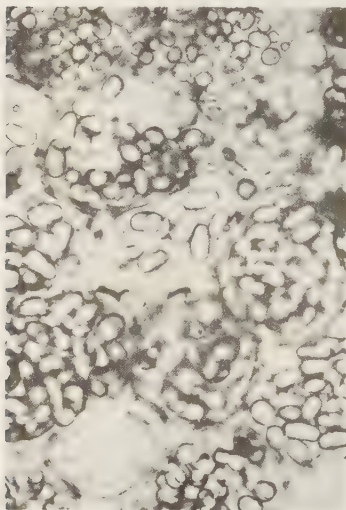


Abb. 45: Mikroskopische Aufnahmen von Stengelquerschnitten bei Kartoffelpflanzen oberhalb (links) und unterhalb (rechts) der Ringelungsstelle

Die bisher verwendete Methode der Ringelung (tiefe Einkerbung der Sprosse) hat den Nachteil, recht unspezifisch zu wirken. Sie unterbindet nicht nur - wie erwünscht - den Phloem-Transport, sondern ebenfalls den Xylem-Transport. Die Tatsache, daß die auf diese Weise geringelten Pflanzen über 14 Tage voll turgezent blieben, obwohl ein Xylem-Transport sicher ausgeschlossen werden kann (vgl. Abb. 44), läßt sich zum einen durch eine Einschränkung der Transpiration durch permanenten Stomataverschluß, zum anderen mit intensivem interzellulärem Wassertransport im Bereich der Ringelungsstelle erklären.

Eine wesentlich spezifischere Methode stellt ohne Zweifel die von Eschrich (1966) beschriebene Methode der Ringelung mit heißem Wasserdampf dar. Sie zerstört die lebenden Zellen des Phloems, wohingegen die toten Xylemzellen nicht beschädigt werden. Mittels dieser Methode kann also tatsächlich gezielt nur der Phloem-Transport unterbunden werden.

Da - wie bereits dargelegt - Solanaceen über bikolaterale Leitbündel verfügen, war eine längere Dampfbehandlung erforderlich, um auch die tiefer liegenden Gewebepartien abzutöten. Vorversuche hatten gezeigt, daß nach 7minütiger Dampfbehandlung das Gewebe kollabierte; in mikroskopischen Schnitten waren keine lebenden Zellen mehr zu erkennen, wohl aber die intakten Xylemzellen.

3.3 Hauptversuch

30 Kartoffelpflanzen wurden bis zu einem Alter von 30 Tagen einheitlich und kontinuierlich mit N ernährt. Anschließend erfolgte Einteilung in 6 Varianten mit je 5 Wiederholungen:

1. weiterhin kont. N
2. Überführung in eine N-freie Nährlösung
3. Überführung in eine N-freie Nährlösung, aber Harnstoffdüngung über die Blätter
4. weiterhin kont. N, geringelt
5. Überführung in eine N-freie Nährlösung, geringelt
6. Überführung in eine N-freie Nährlösung, geringelt, aber Harnstoffdüngung über die Blätter.

Die geringelten Pflanzen zeigten bereits nach wenigen Tagen erste Schädigungen in Form von Nekrosen und Welken vor allem der älteren Blätter. Diese Symptome breiteten sich schnell aus und machten nach 12 Tagen einen Abbruch dieses Teils des Experiments erforderlich. Wie eine nähere Untersuchung der geringelten Pflanzen zeigte, waren die durch Dampfkringelung abgetöteten Gewebepartien infiziert. Es kann daher davon ausgegangen werden, daß die beschriebenen Schädigungen der geringelten Pflanzen durch Phyto-Toxine ausgelöst wurden.

Die Auswertung des zweiten Teils des Versuchs (Einfluß der Harnstoffdüngung über die Blätter auf die Knolleninduktion) konnte hingegen wie

geplant mit dreiwöchiger Versuchsdauer durchgeführt werden und zeigte ein überraschendes Ergebnis: Während bei der als Kontrolle dienenden Variante mit kont. N keine Induktion auftrat, waren sowohl bei der Variante mit diskont. N, als auch bei der Variante diskont. N und Harnstoffdüngung über die Blätter von den 5 Parallelpflanzen jeweils 4 induziert. Darüberhinaus wiesen die mit Harnstoff versorgten Pflanzen die größeren Knollen auf (Abb. 46).

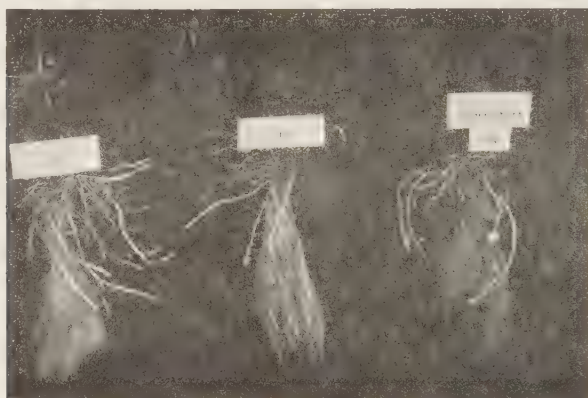


Abb. 46: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf die Knollen-induktion bei Kartoffelpflanzen.
links: kont. N
Mitte: diskont. N
rechts: diskont. N mit zusätzlicher Harnstoffapplikation über die Blätter

Nach gründlichem Abwaschen der Sprosse (2maliges Tauchen von je 5 min. in dest. Wasser) am Versuchsende wurden in den Sprossen und Wurzeln dieser Pflanzen N-Bestimmungen durchgeführt, wobei sowohl Gesamtstickstoff nach Kjeldahl (Selenreaktionsgemisch als Reduktionsmittel) als auch der $\text{NO}_3\text{-N}$ -Gehalt (NO_3^- -sensitive Elektrode) ermittelt wurden.

Wie die in Tab. 1 dargestellten Ergebnisse zeigen, sanken gegenüber kont. N in den Pflanzen mit diskont. N vor allem in den Sprossen sowohl der Gehalt an $\text{NO}_3\text{-N}$ als auch an reduziertem N stark ab. Durch

zusätzliche Harnstoffblattdüngung bei diskont. N konnte der Gehalt der Sprosse an reduziertem N auf einem Niveau wie bei kont. N gehalten werden; die Sprossen der mit Harnstoff behandelten Pflanzen waren daher völlig ausreichend mit N versorgt. Allerdings hatte offenbar keine Netto-Verlagerung dieses blattapplizierten N in die Wurzeln stattgefunden.

Tab. 1: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf den N-Gehalt in Kartoffelpflanzen (Angaben in mg/gTS). Alter der Pflanzen zum Zeitpunkt der Ernte: 50 Tage; Behandlungsdauer: 21 Tage.

Stickstoff- ernährung während der Behandlung	Gesamt-N		reduzierter N		Nitrat-N	
	Spr.	Wurzel	Spr.	Wurzel	Spr.	Wurzel
+N (Wurzel)	53	41	43	51	10	4
-N	26	31	25	30	1	0.5
-N + Ha. (über Blät- ter)	40	25	31	25	1	0.3

Um die gewonnenen Ergebnisse zu überprüfen, wurde das gleiche Experiment zu einem späteren Zeitpunkt wiederholt, wobei allerdings die Behandlungsdauer von 21 Tagen auf 9 Tage verkürzt wurde. Wie aus Abb. 47 ersichtlich, konnten die Ergebnisse des vorhergehenden Versuches im Prinzip bestätigt werden: N-Entzug im Wurzelbereich führte im Sproß und Wurzeln vor allem zum Absinken der NO_3 -N-Gehalte; die Gehalte an reduziertem N dagegen sanken bei 9tägigem N-Entzug kaum ab. Von N-Mangel konnte daher nicht gesprochen werden. Blattspritzung mit Harnstoff erhöhte den N-Gehalt der Sprosse gegenüber der Variante kont. N. Eine Netto-Verlagerung dieses blattapplizierten N in die Wurzel konnte, wie im vorhergehenden Versuch, nicht festgestellt werden.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die Verhinderung der Knolleninduktion durch kontinuierliche N-Ernährung nicht auf einen höheren N-Gehalt in den Pflanzen zurückführbar ist. Besonders deutlich wird dies bei



Abb. 47: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf den N-Gehalt in Kartoffelpflanzen (Angaben in mg/gTs). Alter der Pflanzen zum Zeitpunkt der Ernte: 39 Tage; Behandlungsdauer: 9 Tage.

den mit Harnstoff über die Blätter ernährten Pflanzen. Obwohl der Gehalt an reduziertem N in dieser Variante besonders hoch ist, wurde die Knolleninduktion nicht verhindert, sondern, wie aus Tab. 2 ersichtlich, sogar leicht gefördert.

Tab. 2: Einfluß unterschiedlicher N-Ernährung auf Knolleninduktion und Knollenwachstum (Angaben in g). Alter der Pflanzen zum Zeitpunkt der Ernte: 39 Tage; Behandlungsdauer: 9 Tage.

Stickstoff- ernährung während der Behandlung	Knollenzahl/ Pflanze		Knollengewicht/ Pflanze		Knollengewicht/ Knolle	
	$\bar{x}$	s_x	$\bar{x}$	s_x	$\bar{x}$	s_x
+N (Wurzel)	-	-	-	-	-	-
-N	4.2	5.4	0.4	0.6	0.3	0.2
-N + Ha. über Blatt	16.6	17.6	2.0	2.2	0.1	0.5

Weitere Versuche, mit Hilfe der Unterbrechung des Phloem-Transports durch Dampfriegelung, sollten zusätzliche Informationen über die Rolle der Wurzel bzw. des Sprosses bei der über die N-Ernährung steuerbare Knolleninduktion liefern.

Es zeigte sich jedoch, daß der Phloem-Transport zwar unterbunden werden kann (keine Rückverlagerung von ^{32}P in die Wurzeln nach Blattapplikation von ^{32}P), die Pflanzen jedoch anschließend so geschädigt sind (vgl. S. 75), daß sie für den für die untersuchte Fragestellung notwendigen Zeitraum von über 10 Tagen nicht lebensfähig sind.

Aus diesem Grunde wurden in einem weiteren Versuch Pflanzen, die bis dahin kontinuierlich mit N ernährt worden waren, nach ihrem Überführen in eine N-freie Nährlösung dekapitiert und nur ein ca. 20 cm langer Stengelstumpf als Stärkereservoir belassen. Wie mikroskopische Schnitte zeigten, war in diesem Stengelstumpf Stärke in großer Menge vorhanden. Trotzdem konnte nach 10 Tagen N-Entzug bei diesem Experiment keine Knolleninduktion beobachtet werden.

Dieses Ergebnis ist deshalb von Interesse, da es in einem Vorversuch auch nach der Ringelung nicht nur oberhalb, sondern auch unterhalb der Ringelungsstelle an den Stolonen zur Knolleninduktion kam. Zwischen dem tiefen Einkerbren (Abb. 44) und dem Dekapitieren besteht sicher kein grundlegender Unterschied. Wichtig ist jedoch, daß die Ringelung im ersten Versuch (s. S. 72) erst nach einer 6tägigen N-Entzugsphase vorgenommen wurde, während jetzt die Dekapitierung unmittelbar nach Überführung in eine N-freie Nährlösung erfolgte. Es muß daher davon ausgegangen werden, daß sich die Pflanzen bei dem ersten Ringelungsversuch zum Zeitpunkt der Ringelung bereits im Stadium der Induktion befanden.

4. Kinetinapplikation

Die bisher gewonnenen Ergebnisse scheinen zu beweisen, daß die Wurzeln den Reiz N-Ernährung aufnehmen, ihn in eine hormonelle Information transformieren und diese an den Sproß weitergeben. Wie die Untersuchungen der Cytokininaktivitäten in den verschiedenen Pflanzenorganen zeigten (Abb. 34 und Abb. 35), fällt nach N-Entzug die Cytokininaktivität im Exsudat stark ab, die Cytokininversorgung des Sprosses aus den Wurzeln wird also schlechter. Es wäre denkbar, daß dies die Information ist, auf die der Sproß mit weiteren Veränderungen des Phytohormonspiegels reagiert (z.B. Verschiebung des Verhältnisses von GAS und ABA), die die Knolleninduktion auslösen.

Wenn diese Deutung zutrifft, sollte Kinetinapplikation über den Sproß während der N-Entzugsphase die Knolleninduktion verhindern können. Es lag nahe, dies in einem Versuch zu überprüfen.

Hierzu wurden 30 Kartoffelpflanzen bis zu einem Alter von 30 Tagen kontinuierlich mit N ernährt. Anschließend wurden die Pflanzen in 4 Varianten mit je 5 Parallelen geteilt:

1. konst. N
2. diskont. N
3. diskont. N + Applikation von 10 ppm Kinetin
4. diskont. N + Applikation von 100 ppm Kinetin

Die Kinetinapplikation über den Sproß wurde 2 mal täglich mit einer Blumenspritze vorgenommen; den Lösungen wurde ein Netzmittel zugesetzt.

Wie aus Abb. 48 ersichtlich, verhindert Kinetinapplikation nicht die durch N-Entzug ausgelöste Knolleninduktion. Es scheint sogar, daß Kinetin die Knolleninduktion in einem gewissen Umfang begünstigt (Tab. 3).

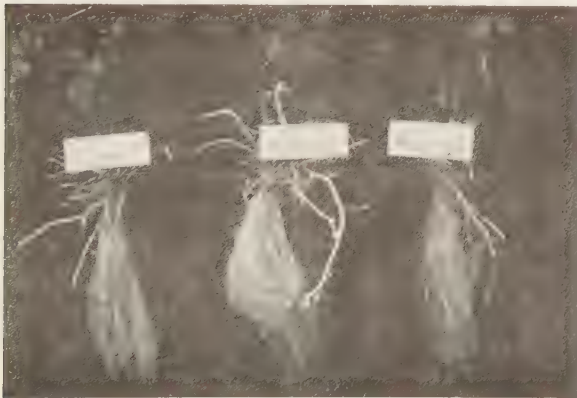


Abb. 48: Einfluß von Kinetinapplikation über den Sproß auf die durch N-Entzug ausgelöste Knolleninduktion.

Um zu überprüfen, ob das applizierte Kinetin überhaupt von den Pflanzen aufgenommen wurde und physiologisch wirksam war, wurde bei jeder Pflanze der Chlorophyllgehalt des jüngsten, schon voll entfalteten und des ältesten, noch nicht stärker nekrotischen Blattes bestimmt.

Wie aus Tab. 4 ersichtlich, weisen vor allem die älteren Blätter der mit Kinetin behandelten Pflanzen einen höheren Chlorophyllgehalt auf, als die vergleichbare Variante diskont. N. Es kann daher davon ausgegangen werden, daß das applizierte Kinetin in den Kartoffelpflanzen physiologisch wirksam war.

Tab. 3: Einfluß von Kinetinapplikation (Kin) über den Sproß auf die durch N-Entzug ausgelöste Knolleninduktion. Alter der Pflanzen zum Zeitpunkt der Ernte: 30 Tage; Behandlungsdauer: 10 Tage.

Behandlung	Knollenzahl/ Pflanze		Knollengewicht/ Pflanze		Knollengewicht/ Knolle	
	$\bar{x}$	s_x	$\bar{x}$	s_x	$\bar{x}$	s_x
+N (Wurzel)	-	-	-	-	-	-
-N	4.2	5.4	0.6	0.6	0.3	0.2
-N + 10 ppm Kin	14.8	10.7	1.5	1.2	0.1	0.1
-N +100 ppm Kin	11.0	6.1	1.7	1.3	0.2	0.2

Tab. 4: Einfluß von N-Ernährung über die Wurzeln und Kinetinapplikation (Kin) über die Blätter auf den Chlorophyllgehalt von Kartoffelblättern unterschiedlichen Alters. Behandlungsdauer: 9 Tage.

Behandlung	mg Chlorophyll/gTS	
	alte Blätter	junge Blätter
+N (Wurzel)	11	18
-N	7	16
-N + 10 ppm Kin	12	17
-N +100 ppm Kin	10	16

5. Versuche zur Identifizierung der in *Solanum tuberosum* L. var. *Ostara* vorkommenden Cytokinine

Im Mittelpunkt der bisherigen Versuche standen die quantitativen Veränderungen der Cytokininaktivität in den verschiedenen Pflanzenorganen, die als Folge der unterschiedlichen N-Ernährung bzw. der hierdurch ausgelösten Knolleninduktion auftraten. Aussagen über den Charakter der beteiligten Cytokinine konnten dabei nicht gemacht werden. Nähere Informationen über die Art der Cytokinine waren daher dringend notwendig. Zum einen wurde bereits ausgeführt, daß sinnvolle Angaben über die bei einer Extraktion und Reinigung zu erwartenden Verluste nur jeweils für ein bestimmtes Cytokinin oder höchstens für eine bestimmte Gruppe von Cytokinin gemacht werden können. Zum anderen war im Laufe der Arbeit, vor allem bei der Untersuchung der Cytokininaktivität in den Knollen, die Bedeutung gerade qualitativer Veränderungen für die Beurteilung der Rolle der Cytokinine in dem Prozeß der Knolleninduktion deutlich geworden.

Um wenigstens gewisse Informationen über den chemischen Charakter der in Kartoffeln vorkommenden und vorherrschenden Cytokinine zu erhalten, wurden 5 kg Pflanzenmaterial extrahiert (vgl. S. 22). Der so gewonnene Extrakt wurde, da eine dünnschichtchromatographische Auftrennung dieser Mengen nicht möglich war, über eine PVP-Säule weiter aufgetrennt. Zuvor wurde die Säule jedoch mit 6 Cytokinin gereicht. Wie aus Abb. 49 ersichtlich, gelang es, diese 6 Cytokinine auf der PVP-Säule zu trennen. Insgesamt wurden 60 Fraktionen à 20 ml gesammelt. Hiervon wurde jeweils ein Aliquot entsprechend 100 g FS entnommen und auf ihre biologische Aktivität im Soja-Kallustest untersucht.

Wie aus Abb. 50 ersichtlich, lief die Hauptaktivität in diesem System im Bereich von Zeatin-Ribosid (ZR). Die weitere Reinigung wurde daher weitgehend auf dieses Cytokinin ausgerichtet. Zunächst wurde der Extrakt über die von Thomas et al. (1975) beschriebenen PVP/CaSO₄-Platten aufgetrennt. Als Laufmittel diente 0.013 M Phosphatpuffer pH 6.4 und 25 % Aceton. Anschließend erfolgte eine zweimalige Auftrennung über Kieselgel (F 254); als Laufmittel 1 Chloroform:Methanol = 9:1; Laufmittel 2 Chloroform:Essigsäure = 8:2. Mit dem Extrakt wurde jeweils am Rande der Platte eine Lösung mit Zeatin-Ribosid aufgetragen, um nach dem Entwickeln

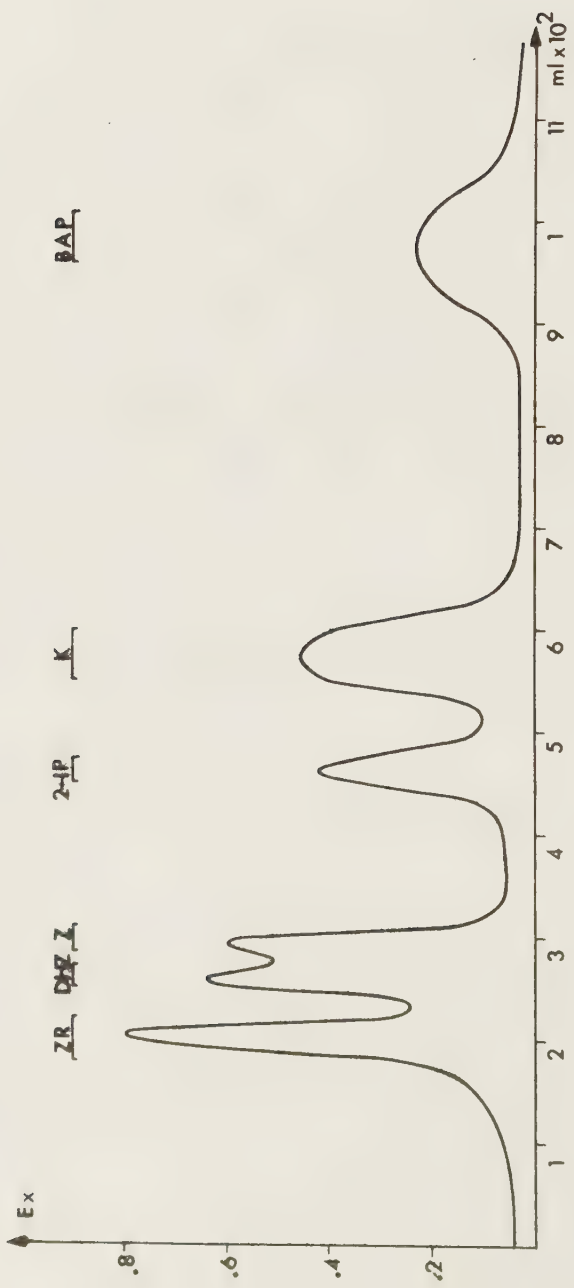


Abb. 49: Auftrennung 6 verschiedener Cytokine über eine PVP-Säule (2×33 cm). Eluiert wurde mit 0.013 M Phosphatpuffer pH 6.4; Fließgeschwindigkeit: 35 ml/h. Die Extinktion wurde bei 254 nm gemessen.
ZR = Zeatin-Ribosid; DHZ = Dihydrozeatin; Z = Zeatin; IP = Isopentenyladenin;
K = Kinetin; BAP = Benzylaminopurin

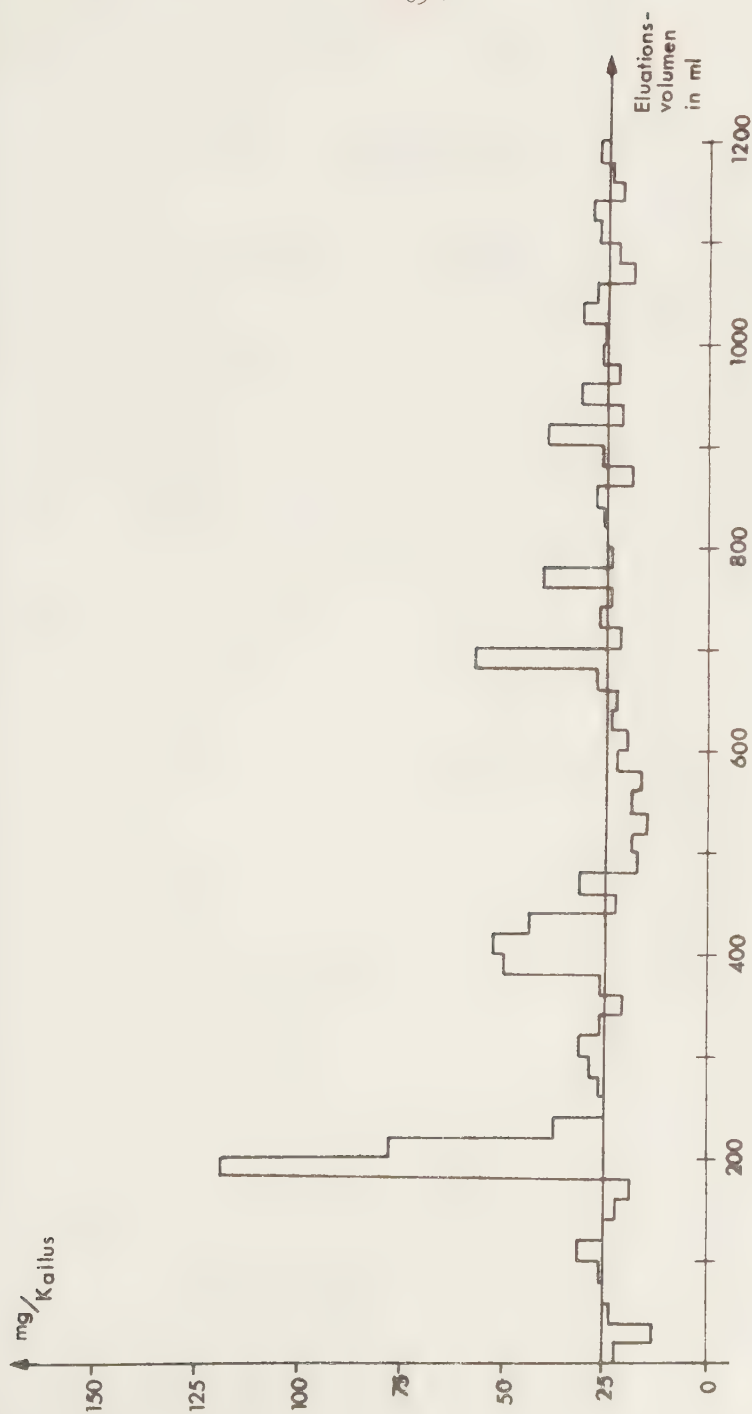


Abb. 50: Histogramm eines Extraktes aus Kartoffelpflanzen (100 g FS). Biotest: Soja-Kallus;
 Auftrennung: iVP-Säule (2x33 cm); 0.013 M Phosphatpuffer pH 6.4; Fließgeschwindigkeit:
 35 ml/h.

der Platten im UV-Licht die ZR-Bande aufzufinden. Die Eluierung der jeweiligen Bande erfolgte in 70 %igem Methanol.

Anschließend wurde der Extrakt in 200 μ l 70 %igen Methanols aufgenommen. Die weitere Auftrennung erfolgte mittels eines Hochdruckflüssigkeitschromatographen (HPLC). Es wurden jeweils 3.5 μ l mittels einer Spritze injiziert. Es zeigte sich jedoch, daß eine stark polare, UV-absorbierende Substanz die Identifizierung anderer Substanzen unmöglich machte. Daher wurde der IR-Bereich aufgefangen und erneut injiziert. Wie aus Abb. 51a ersichtlich, tauchte im Bereich von ZR ein Peak auf, der aufgefangen und erneut injiziert wurde. Wieder tauchte im Bereich von IR ein Peak auf (s. Abb. 51b). Es kann daher mit einiger Sicherheit davon ausgegangen werden, daß Zeatin-Ribosid in Kartoffelpflanzen vorkommt und dort den Hauptbestandteil des Cytokininspektrums ausmacht.



Abb. 51: Auftrennung eines Cytokininextraktes aus Kartoffelpflanzen über eine "permanent bound reverse phase" HPLC-Säule. Eluationsmittel: 40 %iges Methanol; Säulendruck: 1000 psi; Fließgeschwindigkeit: 40 ml/h; Injektionsvolumen: 3,5 μ l. Ausgezogene Linie = Pflanzenextrakt; gestrichelte Linie = Zeatin-Ribosid-Standard; Pfeil = Injektion
a: Injektion des Extrakts
b: erneute Injektion des aufgefangenen ZR-Peaks

IV. Diskussion

1. Stickstoffernährung und Cytokininaktivität

Ausgehend von den Untersuchungen von Mothes (1960), wonach Vergilbung isolierter Tabakblätter sowohl durch Bewurzelung als auch durch Kinetinapplikation verzögert werden kann, galt die Wurzel lange Zeit als die einzige Bildungsstätte der Cytokinine. Diese Annahme wurde durch Untersuchungen von Mothes und Engelbrecht (1963), Kende (1965), sowie Sitton et al. (1967) unterstützt, wobei Weiss und Vaadia (1965) zeigten, daß der Cytokiningehalt in jungem, meristematischem Wurzelgewebe höher ist als in den älteren Teilen der Wurzeln.

Es stellte sich jedoch bald heraus, daß die Wurzel keineswegs den einzigen Syntheseort für Cytokinine darstellt. Insbesondere in jungen Früchten konnten hohe Cytokininaktivitäten nachgewiesen werden (Miller, 1961, Bottomley et al., 1963; Letham, 1963; Loeffler and van Overbeek, 1964), wobei die Samen die höchste Cytokininaktivität aufweisen (Letham and William, 1969).

Heute wird sogar vermutet, daß grundsätzlich alle meristematischen und embryonalen Gewebe Cytokinine synthetisieren können (Klämbt, persönliche Mitteilung).

Trotz dieser Ergebnisse über die Vielzahl der Cytokininsyntheseorte, muß heute noch davon ausgegangen werden, daß die Hauptbildungsstätte für Cytokinine bei höheren Pflanzen in den Wurzelmeristemen lokalisiert sind (Michael et al., 1974) - zumindest solange sich die Pflanze im vegetativen Stadium befindet (Sitton et al., 1967).

Damit in Übereinstimmung steht, daß Umwelteinflüsse, die das Wurzelwachstum negativ beeinflussen, auch zur Reduzierung der Cytokininaktivität in der Pflanze führen (Banko and Boe, 1975); wie Wagner (1970) für Sonnenblumen zeigte, gilt dies auch für N-Entzug. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde auch mit einer Verringerung der Cytokininaktivität in den Kartoffelpflanzen als Folge des N-Entzugs gerechnet. Während im Sproß auch tatsächlich eine leichte Abnahme beobachtet werden konnte (Abb. 22), trat in den Wurzeln ein anderer

Effekt auf: wider Erwarten wurde hier in der N-Entzugsphase der diskontinuierlich N-ernährten Variante ein vorübergehender Anstieg der Cytokininaktivität beobachtet (Abb. 23). Hierfür gibt es zwei mögliche Erklärungen:

1. eine verstärkte Biosynthese der Cytokinine
2. ein Stau der Cytokinine infolge einer Verringerung der Verlagerung aus der Wurzel in den Sproß.

Zu 1.: wie Mothes (1932) zeigen konnte, besteht eine enge Beziehung zwischen Wurzelwachstum und N-Ernährung. "Im Gegensatz zur starken Reduktion der oberirdischen Organe steht die Entwicklung des Wurzelsystems... Die N-Hungerpflanzen zeigen nicht nur ein relativ großes Wurzelsystem, auch qualitativ sind besondere Eigenschaften festzustellen: Streckung der Wurzeln bei geringerer Verzweigung." Daß dies auch für Kartoffeln gilt, konnten Krauß und Marschner (1971) bei Versuchen mit hohem und niedrigem N-Angebot in Wasserkultur zeigen.

Normalerweise deckt die Kartoffelpflanze ihren N-Bedarf nahezu vollständig aus einer Bodentiefe bis zu 25-30 cm; verarmt diese Region an N, so ist die Pflanze in der Lage, tiefer zu wurzeln und aus diesen Bereichen (bis zu 70 cm Tiefe) N aufzunehmen (Kirkham and Keeney, 1974).

Es wäre also denkbar, daß die Kartoffelpflanze auf N-Entzug mit kurzfristig verstärktem Wurzelwachstum reagiert - eben aus dem Bestreben, aus "tieferen Regionen" N aufzunehmen. Damit würde es zu einer vorübergehenden verstärkten Meristemaktivität kommen. Da die Meristeme als die Hauptbildungsorte der Cytokinine angesehen werden, könnte es so zu einer verstärkten Cytokinin synthese kommen.

Zu 2.: aus den Arbeiten von Wagner und Michael (1969/71) ist bekannt, daß N-Entzug eine starke Verringerung der Exsudationsleistung und der Cytokininaktivität im Exsudat zur Folge hat. Dies konnte in der vorliegenden Arbeit auch für Kartoffelpflanzen bestätigt werden (Abb. 24 und 35). Es wäre also denkbar, daß es in den Wurzeln als Folge des N-Entzuges zu einem Cytokinin stau kommt. So ließe sich auch bei gleichbleibender oder sogar geringfügig verringerter Cytokininproduktion der vorübergehende Anstieg der Cytokininaktivität in den Wurzeln diskonti-

nuierlich N-ernährter Pflanzen erklären. Zwar schließt Wagner (1970) die Möglichkeit eines Cytokinstaus in den Wurzeln ausdrücklich aus, doch begründet er dies mit einer bei Sonnenblumen von ihm aufgezeigten positiven Korrelation zwischen Exsudationsleistung und Cytokininaktivität im Exsudat. Diese Beziehung konnte bei den eigenen Versuchen mit Kartoffelpflanzen jedoch nicht bestätigt werden.

Natürlich schließen sich beide Effekte (vermehrte Cytokininproduktion und Cytokinstau) nicht aus, und es ist durchaus möglich, daß sie in der Wurzel nebeneinander vorkommen.

Wie die Untersuchung von Wurzeln nach 24stündiger Exsudation ergaben, ist die Cytokininaktivität in beiden Varianten (kont. N und diskont. N) nicht sehr unterschiedlich (s. S. 52). Dieses Ergebnis würde zunächst nicht für die Annahme eines Cytokinstaus in den Wurzeln sprechen. Es muß allerdings davon ausgegangen werden, daß nach dem Entfernen des Sprosses in der verbleibenden Wurzel Prozesse ablaufen, die mit denen in einer intakten Pflanze nur schwer vergleichbar sind. Hierfür spricht auch das Auftreten einer Hemmung der Cytokininaktivität (s. Abb. 26) und die ausgesprochen niedrige Aktivität in beiden Varianten. Es muß daher damit gerechnet werden, daß entweder Inhibitoren Cytokininaktivität maskieren, oder der Cytokininabbau durch das Entfernen des Sprosses stark beschleunigt wird.

Die vorliegenden Ergebnisse lassen eine eindeutige Interpretation des beobachteten Anstiegs der Cytokininaktivität in den Wurzeln während der N-Entzugsphase nicht zu. Allerdings kann aufgrund der eindeutigen Abnahme der Cytokininaktivität im Exsudat auf eine verringerte Verlagerung in den Sproß als Folge des N-Entzuges geschlossen werden. Daher scheint die Annahme eines Staus der Cytokinine in den Wurzeln, ohne eine verstärkte Neusynthese auszuschließen, gerechtfertigt.

2. Stickstoffernährung und Knolleninduktion

Die Knolleninduktion bedeutet den Übergang der Kartoffelpflanze von der vegetativen zur reproduktiven Entwicklungsphase. Damit es hierzu kommt, müssen die Pflanzen eine bestimmte Zeitspanne hindurch induk-

tiven, also die Induktion fördernden Außenbedingungen ausgesetzt werden; diese Zeitspanne wird Induktionsperiode genannt. Sie beträgt für den Faktor Tageslänge 8-14 Tage (Gregory, 1956; Chapman, 1958; Langile and Forsline, 1974); für den Faktor N-Ernährung liegen keine entsprechenden Angaben vor. Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit gewonnenen Daten stimmen jedoch recht gut mit den für die Tageslänge beschriebenen Daten überein. So sind durchschnittlich 6-10 Tage N-Entzug erforderlich, um die Knolleninduktion einzuleiten; die Länge der Induktionsperiode ist allerdings auch stark vom physiologischen Alter der verwendeten Pflanzen abhängig.

Die Knolleninduktion steht unter der Kontrolle endogener Phytohormone. Auf sie wirken exogene Faktoren wie Tageslänge, Temperatur und N-Ernährung ein, und zwar derart, daß Veränderungen dieser exogenen Faktoren eine Änderung des Verhältnisses der endogenen Phytohormone zur Folge haben. Je nachdem, wie sich dieses Verhältnis ändert, tritt eine Knolleninduktion ein, oder sie wird verhindert. Dieses Verhältnis der endogenen Phytohormone zueinander wird der die Knolleninduktion kontrollierende "Stimulus" genannt (Hammes and Nel, 1975). Dabei handelt es sich bei dem "Stimulus" vermutlich nicht um ein spezifisches Hormon, sondern um das Verhältnis der Gibberelline (GAs) zu den Hemmstoffen wie ABA (Hammes and Beyers, 1973; Hammes and Nel, 1975; Krauß und Marschner, 1976).

Bisher liegen nur wenige Informationen über die Reizaufnahme dieser exogenen Faktoren durch die Pflanze vor. Da anzunehmen ist, daß die Mechanismen der Reizaufnahme unterschiedlich sind und z.B. die Tageslänge nicht über den gleichen Mechanismus wie die N-Ernährung auf den endogenen Phytohormonspiegel wirkt, werden die einzelnen die Knolleninduktion beeinflussenden Faktoren nacheinander besprochen.

1. Tageslänge: wie Leopold (1974) zeigen konnte, sind die Blätter der Ort der Reizaufnahme für die Photoperiode. Hierbei kommt offensichtlich den jungen Blättern und dem Apikalmeristem eine besondere Bedeutung zu (Chapman, 1958; Okazawa and Chapman, 1962; Hammes and Beyers, 1973).

Die oberirdischen Sproßorgane stellen nicht nur den Ort der Reizaufnahme dar, in ihnen wird auch der die Knolleninduktion auslösende

'Stimulus' gebildet. Dieser läßt sich - wie Gregory (1956) und Chapman (1958) zeigten - durch Pfropfung auf eine nicht-induzierte Unterlage übertragen. Im Sproß werden allerdings auch die Induktion verhindernde Substanzen gebildet; dies geschieht offensichtlich vor allem in den jüngeren Blättern und dem Apikalmeristem. Werden diese nämlich entfernt, so tritt auch unter nicht-induktiven Bedingungen die Knolleninduktion ein, die sich aber durch GA-Applikationen auf die Schnittfläche verhindern läßt (Hammes and Beyers, 1973).

Unter induktiven Lichtbedingungen wird somit im Sproß ein die Knolleninduktion auslösender Stimulus gebildet, der Phloem-mobil ist und basipetal und polar transportiert wird.

2. Temperatur: Obwohl die Bedeutung vor allem der Nachttemperatur für die Knolleninduktion und das Knollenwachstum seit langem bekannt ist - durch hohe Bodentemperatur kann beispielsweise auch unter induktiven Lichtbedingungen die Induktion verhindert werden (Driver and Hawkes, 1943) - liegen über den Ort der Reizaufnahme nur sehr wenige Informationen vor.

Gregory (1954) konnte zeigen, daß der Sproß gegenüber hohen Temperaturen eine höhere Empfindlichkeit besitzt als die Wurzeln, d.h. hohe Sproßtemperaturen (30 °C) die Induktion stärker verhindern als hohe Wurzeltemperaturen. Slater (1968) bestätigte diese Ergebnisse im wesentlichen. Seiner Arbeit zufolge beschleunigen tiefe Nachttemperaturen im Sproßbereich die Knolleninduktion stärker als tiefe Nachttemperaturen im Wurzelbereich, jedoch sind beide Organe an der Reizaufnahme beteiligt. Nach Went (1957) wird durch tiefe Nachttemperaturen im Sproß eine die Knolleninduktion auslösende Substanz gebildet, die basipetal transportiert wird und in den Stolonen die Knolleninduktion auslöst.

3. N-Ernährung: über den Wirkungsmechanismus der N-Ernährung auf die Knolleninduktion liegen keine gezielten Untersuchungen vor. Es war ein Ziel der vorliegenden Arbeit, hierfür erste Informationen zu liefern.

Obwohl nach den bisher vorliegenden Ergebnissen über andere die Knolleninduktion kontrollierende Faktoren (Gregory, 1956; Okazawa and Chapman, 1962; Hammes and Beyers, 1973) die Annahme, daß auch für den Faktor N-Ernährung der die Knolleninduktion auslösende "Stimulus" aus dem Sproß kommt, gerechtfertigt erschien, konnte doch die Möglichkeit einer Bildung dieses "Stimulus" in den Wurzeln nicht ausgeschlossen werden.

Gegen die Annahme, der die Knolleninduktion auslösende "Stimulus" komme aus der Wurzel, sprechen folgende Ergebnisse: Wird eine Pflanze erst nach einer 6tägigen N-Entzugsphase geringelt, und zwar so tief, daß es einem Abschneiden des Sprosses gleichkommt, dann kommt es zur Induktion. Innerhalb weniger Tage bildeten sich Knollen beachtlicher Größe (Abb. 44). Wird der Sproß dagegen unmittelbar nach Überführen der Pflanze in eine N-freie Nährlösung entfernt, so tritt keine Induktion auf. Käme der die Knolleninduktion auslösende "Stimulus" aus den Wurzeln, so hätte in beiden Fällen eine Induktion beobachtet werden müssen.

Dieses Ergebnis läßt nur eine Erklärung zu: Während der sechstägigen N-Entzugsphase wurde im Sproß ein "Induktionsstimulus" gebildet und basipetal transportiert; er war zum Zeitpunkt der Ringelung bereits in den Stolonen gespeichert, auch wenn visuell noch keine Induktion festzustellen war. Nur so konnte nach der Ringelung noch eine Induktion auftreten. Wenn also der Sproß Bildungsort des "Stimulus" ist, so muß er aber die Information über den jeweiligen N-Ernährungszustand von der Wurzel erhalten.

Im folgenden Abschnitt soll versucht werden, anhand der eigenen Ergebnisse mögliche Theorien dieser Informationsübertragung zu diskutieren (s. auch Schema S. 101). Dabei muß jedoch berücksichtigt werden, daß die hier diskutierten Theorien den tatsächlich in der Pflanze ablaufenden Prozessen in ihrer Komplexität nur ansatzweise nahe kommen können. Es ist beispielsweise zu bedenken, daß die Knolleninduktion von drei Organen gesteuert wird: Mutterknolle, Wurzel, Sproß. Eine weitere Schwierigkeit ist unser mangelndes Wissen über die Interaktion der einzelnen an der Knolleninduktion beteiligten Phytohormone. Der

teilweise stark vereinfachte Charakter der folgenden Modellvorstellungen, z.B. Nichtberücksichtigung anderer Phytohormone wie IAA, erklärt sich aus den notwendigerweise vorgenommenen Vereinfachungen.

3. N-Mangeltheorie

Die Wurzel transportiert bei N-Entzug in der Nährlösung nicht genügend N (als NO_3^- oder in reduzierter Form als Amino- oder Amid-N) in den Sproß. Dieser reagiert auf den N-Mangel mit der Bildung des die Knolleninduktion auslösenden Stimulus.

In dieser Theorie fungiert die Wurzel ausschließlich als Aufnahme- und Transportorgan. Sie setzt den Reiz "N-Entzug" nicht in eine hormonelle Information um. Gegen diese Annahme sprechen eine Reihe von Ergebnissen: a) Die Knolleninduktion kann durch Harnstoffapplikation über die Blätter während der N-Entzugsphase nicht verzögert werden (s. Tab. 2).

b) Die Untersuchung der Sprosse auf ihren Gehalt an reduziertem N ergab, daß nach stetigem N-Entzug zwar eine Verminderung des NO_3^- -Gehalts, nicht aber des Gehalts an reduziertem N stattgefunden hatte, d.h. also, ein N-Mangel bestand nicht (s. Abb. 47).

c) Bei den Ringelungsversuchen wurden bei allen Varianten (auch bei der mit kont. N) Luftknollen gebildet (s. Abb. 52). Da durch die Ringelung jedoch nur der Phloemtransport unterbunden wurde, N jedoch in Form von NO_3^- oder als reduzierte N-Verbindung im Xylem aus den Wurzeln in den Sproß transportiert wird, hätte nach dieser Theorie in der Variante mit kont. N keine Bildung von Luftknollen auftreten dürfen.

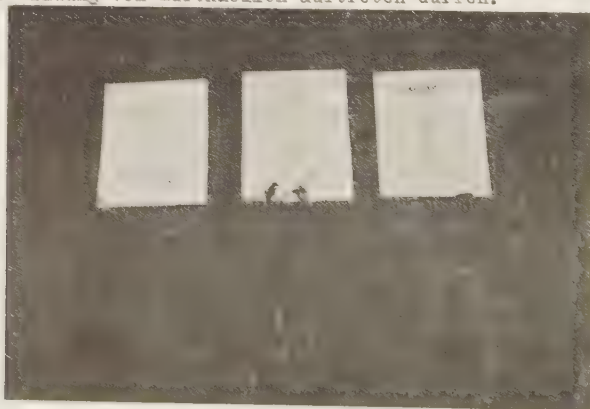


Abb. 52: Durch Ringelung hervorgerufene Luftknollenbildung bei unterschiedlicher N-Ernährung (von links nach rechts: N-freie Nährlösung, vollständige Nährlösung, N-freie Nährlösung, aber Harnstoffapplikation über die Blätter).

3.2 Alterungstheorie

Wie die Cytokininuntersuchungen des Exsudats zeigen, sinken infolge des N-Entzugs die Cytokininaktivität im Exsudat und die Exsudationsleistung stark ab. Es kann daher davon ausgegangen werden, daß auch in der intakten Pflanze die Cytokininversorgung des Sprosses durch den N-Entzug verschlechtert wird. Dafür spricht auch die Abnahme der Cytokininaktivität im Sproß während der N-Entzugsphase (s. Abb. 22).

Bekanntlich können Cytokinine die Alterung isolierter Blätter, aber auch intakter Pflanzen, verhindern (Mothes, 1960; Kulaeva, 1962; Mothes and Engelbrecht, 1963; Wagner und Michael, 1971; vgl. auch S. 81 der vorliegenden Arbeit). Umgekehrt kann vermutet werden, daß eine verminderte Cytokininzufuhr aus den Wurzeln die Alterung des Sprosses beschleunigt (Sitton et al., 1967; Krauß und Marschner, 1976). Bekanntlich kommt es hierbei in den Blättern zum Anstieg der ABA-Gehalte, während die GA-Gehalte absinken (Chin and Beevers, 1970; Rajagopal and Rao, 1974). Anstieg bei ABA und Abfall bei GA sind beides Faktoren, die die Knolleninduktion begünstigen bzw. stets mit ihr einhergehen (Cornforth et al., 1966; Okazawa, 1967; Smith and Rappaport, 1969; Pont Lezica, 1970; Hammes and Nel, 1975) (s. Tab. 5).

Aufgrund dieser Ergebnisse schien folgendes Modell denkbar: N-Entzug vermindert die Cytokininversorgung des Sprosses aus der Wurzel. Hierdurch wird die physiologische Alterung der Pflanzen beschleunigt - der GA-Gehalt sinkt, der ABA-Gehalt steigt. Dieser "Stimulus" wird basipetal in die Stolonen transportiert und ruft hier die Knolleninduktion hervor.

Gegen diese Annahme sprechen folgende Ergebnisse:

a) Entspräche die oben skizzierte Theorie den tatsächlichen Verhältnissen in der Pflanze, so müßte die Applikation von Kinetin über den Sproß während der N-Entzugsphase die Knolleninduktion verhindern. Dies ist jedoch, wie Tab. 3 zeigt, nicht der Fall; im Gegenteil scheint die Kinetinapplikation die Knolleninduktion sogar in einem gewissen Maße zu fördern.

b) Bei dem Ringelungsversuch wurden bei allen Varianten (auch bei den mit kont. N ernährten) Luftknollen gebildet. Da durch die Ringelung

wenn der Phloemtransport unterbunden wird, die Cytokininversorgung des Sprosses aus den Wurzeln jedoch hauptsächlich über das Xylem aufrechterhalten wird, hätte nach dieser Theorie bei den Pflanzen mit kont. N keine Luftknollenbildung auftreten dürfen.

3.2 Wurzelsteuerungstheorie

Nach dieser Theorie fungiert die Wurzel als Rezeptor des Reizes N-Ernährung. Sie transformiert ihn in eine hormonelle Information, die in den Sproß transportiert wird und dort weitere Veränderungen des endogenen Phytohormonspiegels hervorruft; diese Veränderungen des endogenen Phytohormonspiegels lösen ihrerseits die Knolleninduktion aus. Hierfür gibt es zwei Möglichkeiten:

a) Bei kontinuierlichem N-Angebot produziert die Wurzel eine Substanz (oder ein Substanzgemisch), bei N-Entzug bleibt die Produktion aus, oder ihr Abtransport in den Sproß wird verhindert. Das Ausbleiben dieser Substanz(en) ist für den Sproß die Information, auf die er mit der Bildung des "Stimulus" reagiert.

b) Bei N-Entzug wird in den Wurzeln eine Substanz(en) gebildet, die in den Sproß transportiert wird und dort die die Knolleninduktion auslösenden Veränderungen des Phytohormonspiegels hervorruft.

Gegen diese Theorie spricht - wenn ein Xylemtransport der Substanz(en) angenommen wird - die Bildung von Luftknollen bei allen Varianten (s. Abb. 52).

Wenn dagegen ein Phloemtransport dieser Substanz(en) angenommen, lassen sich mit dieser Theorie nicht nur die Luftknollenbildung erklären, sondern auch der Übertransport - Ausbleiben der Substanz(en) im Sproß könnte die gesuchte Information sein), sondern auch alle bisher geschilderten Ergebnisse erklären.

Daß es sich bei dieser Substanz(en) nicht nur um einen reinen Informationsträger handelt, sondern daß sie aktiv an dem Prozeß der Knolleninduktion beteiligt ist, dafür sprechen einige beobachtete Phänomene: Bei Versuchen mit Sproßstecklingen von Kartoffelpflanzen zeigte sich, daß diese sehr häufig spontan, d.h. ohne vorherige Bodenbehandlung, Knollen bildeten. Bei Stecklingen, an denen diese

Beobachtung gemacht wurde, trat nie Wurzelbildung auf. Wurden die Stecklinge hingegen mit Wurzelfix (einem Bewurzelungsmittel aus IAA und Talkum) behandelt, so trat eine normale Wurzelbildung ein und die spontane Knollenbildung unterblieb (s. Abb. 53).

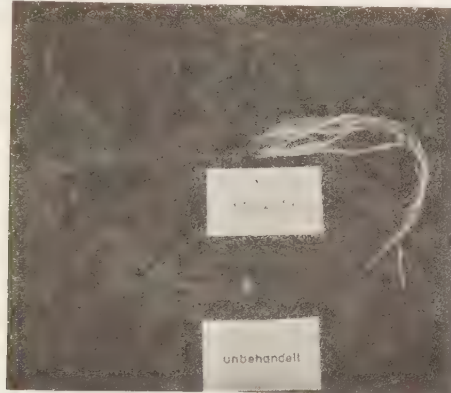


Abb. 53: Antagonismus zwischen Wurzelbildung und spontaner Knollenbildung bei Stecklingen von Kartoffelpflanzen

Ähnliche Beobachtungen machte Purohit (1970) mit Stecklingen von Kurztag- (KT) und Langtag- (LT) -Pflanzen. Während Stecklinge von LT-Pflanzen Wurzeln bildeten, blieb dies bei Stecklingen von KT-Pflanzen aus; diese bildeten vielmehr Knollen ohne vorheriges Stolonenwachstum. Purohit schließt aus seinen Ergebnissen: "...long-day either favours the syntheses of a root-forming substance(s) which is inactivated under short-day conditions, or else the tuber forming substance(s) inhibits the growth of roots."

Weiterhin wurde beobachtet, daß bei jungen Kartoffelpflanzen aus physiologisch sehr alten Knollen, die bereits zum Zeitpunkt des Einsetzens in die Wasserkultur oft schon Knollen aufwiesen, diese Knollen aber "durchwuchsen", sobald das Wurzelwachstum einsetzte.

Diese, einen gewissen Antagonismus zwischen Wurzelwachstum und Knolleninduktion aufzeigenden Beobachtungen, lassen einen Schluß zu, der von Purohit nicht gezogen wurde: Die ungestört wachsende Wurzel produziert eine Substanz(en), die, akropetal im Phloem transportiert, die Knolleninduktion verhindert.

Wenn auch, wie bereits dargelegt, N-Entzug eine Verschiebung des Wurzel/Sproß-Verhältnisses zugunsten der Wurzel nach sich zieht, also N-Entzug nicht einen Wachstumsstop für die Wurzel bedeutet, so haben doch Mothes (1932) sowie Krauß und Marschner (1971) übereinstimmend festgestellt, daß mit diesen quantitativen auch qualitative Veränderungen der Wurzel einhergehen: die Wurzeln der ausreichend mit N versorgten Pflanzen sind wesentlich feiner und verzweigter (was einen Zuwachs an aktiven Meristemen bedeutet) als die der ungenügend mit N versorgten Pflanzen.

Es kann daher davon ausgegangen werden, daß in den Wurzelmeristemen der ausreichend mit N versorgten Pflanzen eine die Knolleninduktion verhindernde Substanz(en) produziert wird, die, in den Sproß transportiert, den endogenen Phytohormonspiegel in einem für die Induktion ungünstigen Niveau hält. Hört die Produktion dieser Substanz(en) infolge von N-Entzug, Schädigung der Wurzel (Krauß und Marschner, 1976) oder anderer, das Wurzelwachstum negativ beeinflussender Faktoren auf, so stellt sich im Sproß - begünstigt durch die gewählten Versuchsbedingungen (12 Stunden Tag, 20 °C Tag und Nacht) - ein die Knolleninduktion auslösendes Phytohormonverhältnis ein. Dieser "Stimulus" löst dann in den Stolonen die Induktion aus.

Über den Charakter der in der Wurzel produzierten Substanz(en) können nur Vermutungen angestellt werden. Bekanntlich vermindern alle die Knolleninduktion begünstigenden Faktoren den GA-Gehalt in der Pflanze (s. Tab. 5), während GA-Applikation die Knolleninduktion verhindert (Okazawa, 1967; Hammes, 1971; Hammes and Nel, 1975; Krauß und Marschner, 1976). Es ist daher nicht abwegig, anzunehmen, daß es bei der gesuchten Substanz(en) sich um GA-ähnliche Verbindungen handelt.

Obwohl der Sproß und vor allem die jungen Blätter im allgemeinen als die Hauptsyntheseorte für Gibberelline angesehen werden, ist es doch

Tab. 5: Einfluß exogener Faktoren auf den endogenen Inyltormonspiegel höherer Pflanzen

Faktoren, die die Knolleninduktion beeinflussen	Endogener Phytohormonspiegel			
	ABA	GA	Cytokinine	Auxine
Kurztag	hoch ⁹	niedrig ^{7,8,9,10}	:	niedrig ^{1,3}
Langtag	niedrig ³	hoch ^{2,8,9,10}	:	hoch ^{7,8}
niedrige Temperatur	hoch ¹⁵	niedrig ⁸	hoch ^{1,10}	niedrig ⁸
hohe Temperatur	niedrig ¹⁵	hoch ⁸	niedrig ^{1,10}	hoch ⁸
diskont. N	hoch ^{3,9,11}	niedrig ^{11,12}	niedrig ^{1,13}	hoch ^{4,14}
kont. N	niedrig ^{3,9,11}	hoch ^{11,12}	hoch ^{1,10}	niedrig ^{4,14}

*) Angabe gilt bei Kartoffelpflanzen nur für nicht-induzierte Pflanzen.

¹ Hauko and Boe, 1975; ² Griley, 1970; ³ Jolabach, 1978; ⁴ Kapalachari, 1980; ⁵ Jewett and Wareing, 1973a; ⁶ Caraus, persönliche Mitteilung; ⁷ Naeve, 1978; ⁸ Okazawa, 1971; ⁹ Pont Leveica, 1970; ¹⁰ Walton and Wareing, 1973; ¹¹ Jagagopal and Rao, 1974; ¹² Jagagopal and Rao, 1972; ¹³ Wagner und Michael, 1971; ¹⁴ Witt, 1965; ¹⁵ Wright, 1975.

unumstritten, daß sie auch in den Wurzeln gebildet werden können (Sitton et al., 1967; Skene, 1967; Carr and Reid, 1968; Reid and Burrows, 1968; Pont Lezica, 1970; Reid and Crozier, 1971); ihre Phloemmobilität konnten Hoad and Boven (1968) demonstrieren. Crozier and Reid (1971) vermuten, daß es zwischen den im Sproß und den in den Wurzeln synthetisierten Gibberellinen eine Wechselwirkung gibt. Aufgrund ihrer Ergebnisse sollen die in dem Sproß gebildeten Gibberelline in die Wurzeln transportiert und dort umgebaut werden.

Es ist also nicht auszuschließen, daß Gibberellin-ähnliche Verbindungen zu den Substanzen gehören, die unter das Wurzelwachstum begünstigenden Verhältnissen - also auch bei kontinuierlichem N-Angebot - in den Wurzeln gebildet werden und die Knolleninduktion verhindern. Für diese Möglichkeit sprechen auch Untersuchungen an Tomatenpflanzen: so zeigten Reid and Crozier (1971), daß Überstauung (also ungünstige Wachstumsbedingungen für die Wurzel) einen deutlichen Rückgang des Gibberellin-Exports aus den Wurzeln zur Folge hat.

Anfangs wurde festgestellt: die Knolleninduktion steht unter der Kontrolle endogener Phytohormone, auf sie wirken exogene Faktoren wie Tageslänge, Temperatur und N-Ernährung ein, und zwar derart, daß Veränderungen dieser exogenen Faktoren eine Änderung des Verhältnisses der endogenen Phytohormone zur Folge haben. Nun gibt es allerdings offensichtlich zwei Arten von Veränderungen des endogenen Phytohormonspiegels:

1. die im Tagesrhythmus ablaufenden kurzfristigen, und
2. die im Jahresrhythmus ablaufenden langfristigen Veränderungen des Phytohormonspiegels.

Während die ersteren etwa für die Regulierung von tropistischen Reaktionen (El-Antably, 1975) oder der Stomatabewegung (Düring und Scienza, 1975; Düring, 1976) infrage kommen, regulieren die langfristigen Veränderungen Vorgänge wie Austreiben der Knospen bzw. Knospenruhe (Alvin et al., 1975; Goldbach, 1975; Hewett and Wareing, 1973 a), Speicherprozesse (Goldbach, 1975; Waitz, 1975; Vollmer, 1976) und ähnliche im Jahreszyklus der Pflanze ablaufende Prozesse.

Das Vorhandensein einer Induktionsperiode belegt, daß es sich bei den die Knolleninduktion kontrollierenden Veränderungen des Phytohormonspiegels um langfristig stattfindende Prozesse handelt. Die Ursache für diese "Trägheit" des Systems liegt sicher darin, daß es einiger Zeit bedarf, bis sich das die Induktion auslösende endogene Phytohormonverhältnis in der gesamten Pflanze eingestellt hat.

Diese "Trägheit" scheint für beide Richtungen - Knolleninduktion und "Durchwachsen" der Knollen - zu bestehen. So demonstrierte Gregory (1956), daß Stecklinge aus Kartoffelpflanzen, die unter induktiven Bedingungen angezogen worden waren, Knollen bildeten, auch wenn sie in nicht-induktive Verhältnisse überführt wurden, während Stecklinge von Kartoffelpflanzen aus nicht-induktiven Bedingungen unter keiner Bedingung Knollen bildeten. "It is thus evident, that inductive conditions have an after-effect; they enable the plant to produce tubers, at least for some time, even if transferred to conditions under which tuber formation normally does not occur" (Gregory, 1961).

3. Cytokinine und Knolleninduktion

Im Kapitel "N-Ernährung und Knolleninduktion" (S. 95) wurde bereits unter dem Stichwort "Alterungstheorie" eine mögliche Rolle der Cytokinine im Prozeß der Knolleninduktion diskutiert.

Nach dieser Theorie sollte eine Verminderung der Cytokininversorgung des Sprosses aus den Wurzeln als Folge des N-Entzugs eine Beschleunigung der Alterung der Pflanze bewirken. Mit fortschreitender Alterung geht bekanntlich ein Abfall der GA- und ein Anstieg der ABA-Aktivität einher. Diese durch verringerte Cytokininzufuhr ausgelösten Veränderungen des Phytohormonspiegels sollten nach der "Alterungstheorie" die Knolleninduktion auslösen.

Daß diese Theorie unhaltbar ist, zeigte ein Applikationsversuch (s.S. 80): wurde Kinetin während der N-Entzugsphase über die Blätter appliziert, so hatte dies keine hemmende Wirkung auf die Knolleninduktion, wie es nach der "Alterungstheorie" zu erwarten gewesen wäre, sondern schien sogar die Knolleninduktion leicht zu fördern (s. Tab. 3). Aufgrund dieser

Ergebnisse ist es recht unwahrscheinlich, daß Cytokinine bei der Übermittlung des Reizes N-Entzug aus der Wurzel in den Sproß von Bedeutung sind.

Auch für die direkte Beteiligung der Cytokinine in der Stolonenspitze an der Auslösung der Knolleninduktion gibt es keine Hinweise. Im Gegensatz zu CCC oder ABA ruft Kinetinapplikation auf die Stolonenspitze keine Knolleninduktion hervor (Krauß und Marschner, 1976). Zwar gelang es Palmer and Smith (1969) bei in-vitro Versuchen durch Kinetinapplikation Knollen an isolierten Stolonen zu induzieren, jedoch könnte es sich hierbei um einen Sekundäreffekt handeln: bekanntlich hemmt Kinetin in höheren Konzentrationen die Wurzelbildung (Skoog and Miller, 1957). Auf dem von Palmer and Smith (1969) veröffentlichten Photo ist dann auch die mit Kinetin behandelte Variante im Gegensatz zur unbehandelten Kontrolle unbewurzelt, was nicht verwundert, da die von Palmer and Smith gewählte Kinetinkonzentration von 2.5 mg/l um den Faktor 100 über dem für die Wurzelbildung optimalen Bereich liegt.

Aufgrund der im Rahmen der vorliegenden Arbeit gewonnenen Erkenntnisse wird davon ausgegangen, daß in der ungestört wachsenden Wurzel ein die Knolleninduktion hemmender Faktor produziert wird. Es wäre also denkbar, daß die von Palmer and Smith beschriebene Knolleninduktion nicht auf einer spezifischen Kinetineinwirkung beruht, sondern daß durch die hohe Kinetinkonzentration die Wurzelbildung gehemmt wurde und daher der hypothetische, die Knolleninduktion verhindernde Faktor nicht produziert werden, die Knolleninduktion also eintreten konnte. Für diese unspezifische Wirkung des Kinetins bei der Auslösung der Knolleninduktion spricht auch die Tatsache, daß bei in-vitro Versuchen die Knolleninduktion auch durch den Keimungshemmer Cumarin ausgelöst werden kann (Stallknecht, 1972). Zu einem ähnlichen, die Rolle der Wurzeln betreffenden Schluß kommt Tizio (1973) aufgrund eigener Experimente: "However the precocious tuberization induced by kinetin is correlated with an inhibition of root formation on stoloniferous shoots, and with a retarded growth of them. It is worthwhile to emphasize that roots, from sections of growing tuber buds in vitro, and from cuttings, seem to synthesize a factor which delays tuberization."

Es kann daher davon ausgegangen werden, daß Cytokinine bei der Auslösung der Knolleninduktion nicht direkt beteiligt sind, jedoch für das Knollenwachstum von entscheidender Bedeutung sind. Dieser Aussage ist eine Definition des Begriffs "Knolleninduktion" voranzustellen. Im allgemeinen wird die Knolleninduktion als das Anschwellen der Stolone im subapikalen Bereich definiert, ausgelöst durch Zellstreckung und Zellteilung (Booth, 1968). Unter Knolleninduktion kann jedoch auch die durch Phytohormone hervorgerufene Auslösung dieser Vorgänge verstanden werden, die sich noch nicht als visuell feststellbare Veränderungen der Stolonen spitze ausmachen lassen.

In der vorliegenden Arbeit wurde zwar versucht, unter Knolleninduktion die durch Veränderungen im Phytohormonspiegel der Pflanze ausgelösten Veränderungen in der Stolone, und als Knollenwachstum die daran anschließende intensive Zellteilung und Zellstreckung in der Stolone bzw. in der jungen Knolle zu definieren. Leider ist auch in der vorliegenden Arbeit diese strikte Trennung zwischen Induktion und Wachstum nicht möglich gewesen, da eine Induktion bisher nur visuell feststellbar ist, also zu einem Zeitpunkt, da das Wachstum bereits eingesetzt hat.

Die Knolleninduktion selbst löst vor allem in den Stolonen und im Sproß qualitative und quantitative Veränderungen im Bereich der Cytokinine aus. Diese Veränderungen sollen im folgenden mit den gewonnenen Ergebnissen diskutiert werden.

4. Knolle

In der vorliegenden Arbeit wurde nicht nur der von Okazawa (1969) in Feldversuchen aufgezeigte starke Anstieg der Cytokininaktivität in den jungen Knollen unmittelbar nach Beginn des Knollenwachstums bestätigt (s. Kap. 10), sondern es wurden auch neben diesen rein quantitativen und eindrucksvolle qualitative Veränderungen des Cytokininspektrums beobachtet: In Stolonen und Knollen wurden meist zwei im Chlorophyllbildungstest aktive Fraktionen nachgewiesen. In nicht-induzierten Stolonen von kont. N ernährten Pflanzen bildete die langsam laufende Fraktion A, in jungen Knollen hingegen die schneller laufende Fraktion B die Hauptaktivität der Cytokinine. Die Tatsache, daß diese Veränderungen

reversibel sind, wenn durch hohe N-Gaben das "Durchwachsen" der Knollen hervorgerufen wird (s. Abb. 41), weist auf den engen Zusammenhang dieser qualitativen und quantitativen Veränderungen des Cytokininpektrums mit der Knolleninduktion und dem Knollenwachstum hin.

In den jungen Knollen stieg die Cytokininaktivität bezogen auf das Frischgewicht der Knollen stark an, um dann sehr bald (Knolledurchmesser: 8-10 mm) wieder abzunehmen (s. Abb. 35); wurde hingegen die Cytokininaktivität pro Knolle aufgetragen, so fand ein ständiger Anstieg der Aktivität statt (s. Abb. 37). Es kann daher davon ausgegangen werden, daß die Abnahme der Cytokininaktivität in bezug auf das Frischgewicht auf einer Verdünnung der Cytokininkonzentration pro Zelle durch Einlagerung von Assimilaten, insbesondere Stärke, beruht (s. S. 39).

Aufgrund der Ergebnisse von Heide and Skoog (1967), Okazawa (1967) und Okazawa (1969) kann vermutet werden, daß die Cytokinine für die verstärkte Zellteilungsaktivität vor allem der kortikalen Zellen nach Einsetzen der Knolleninduktion mitverantwortlich sind. Die Vergrößerung des Stolonendurchmessers im subapikalen Bereich wird nicht nur durch verstärkte Zellteilung, sondern vor allem durch eine Umpolung der Zellstreckungsrichtung hervorgerufen. Während die Zellstreckung vor der Induktion vor allem in lateraler Richtung erfolgt, wird in jungen Knollen vor allem eine Zellstreckung in dorsiventraler Richtung beobachtet (Booth, 1963). Auch bei diesem Prozeß könnten Cytokinine beteiligt sein (Hoshimoto, 1961; Sattelmacher, 1973; Jakob et al., 1975).

Von wachsenden Früchten sind ebenfalls hohe Cytokininaktivitäten bekannt (Miller, 1961; Bottomley et al., 1963; Waitz, 1975). Anders hingegen bei den Früchten, bei denen nach einer Periode intensiver Zellteilung die weitere Fruchtvergrößerung hauptsächlich auf Zellstreckung beruht (Houghtaling, 1935), treten nach Plaisted (1957) bei Kartoffeln Zellteilung und Zellstreckung während der gesamten Wachstumsperiode der Knolle nebeneinander auf. Die Tatsache, daß Okazawa (1969) erst ganz am Ende der Wachstumsperiode der Kartoffelknolle eine Abnahme

Der Cytokininaktivität pro Knolle verzeichnet, während diese bei Früchten bis zum Ende der Zellteilungsaktivität recht früh einsetzt (Waitz, 1975), mag als zusätzliches Indiz für die bereits vermuteten Zusammenhänge von Zellteilungsintensität und Cytokininaktivität gewertet werden.

Palmer and Smith (1969) vermuteten, daß die Cytokinine in der Knolle neben der Regulierung der Zellteilungsaktivität vor allem bei der Bildung des neuen Attraktionszentrums für Assimilate eine entscheidende Rolle spielen. Daß die Knolle einen derartigen "Sink" darstellt, zeigten beispielsweise Tagawa and Okazawa (1953): mit Eintritt der Knolleninduktion nimmt die Stärkekonzentration in den Stolonspitzen stark zu, während gleichzeitig diejenige der Mutterknolle stark abnimmt. Berücksichtigt man die fördernde Wirkung von Huminstoffapplikation auf das Trockengewicht bei Getreide (Michael et al., 1970), so kann eine derartige Cytokinineinwirkung auch in der Knolle vermutet werden.

c) Sproß

Nach Eintritt der Knolleninduktion wurde während der N-Entzugsphase in den oberirdischen Sproßorganen ein starker Anstieg der Cytokininaktivität in der Butanol-Phase beobachtet (s. Abb. 26), der mit einer Abnahme der Cytokininaktivität in der H_2O -Phase einherging (s. Abb. 27). Der Anstieg in der Butanol-Phase kann, wie Untersuchungen der Cytokininaktivität im Exsudat zeigen (s. Abb. 33), nicht auf einer verstärkten Zulieferung aus den Wurzeln beruhen. Es wird daher vermutet (obwohl eine ständige Untersuchung der H_2O -Phase aus Zeitgründen nicht möglich war), daß die Zunahme der Cytokininaktivität in der Butanol-Phase auf Veränderungen des Cytokininspektrums in Richtung einer gesteigerten Butanol-Löslichkeit beruht.

Nach van Staden (1976 a, b) werden Cytokinine in den Blättern zu ihren nicht-Butanol-löslichen Glukosiden umgebaut. Diese in der Pflanze nur schwach oder gar nicht aktiven Cytokininglukoside stellen vermutlich die Speicherform der Cytokinine dar (Parker and Letham, 1973; Hewett and Wareing, 1973 a; van Staden, 1976 a). Diese Annahme wird durch den Nachweis von Zeatinglukosid als Hauptbestandteil des Cytokininspektrums in Kokosnußmilk (van Staden, 1976 b) unterstützt. Die

Cytokininglukoside sind nach van Staden (1976 a) phloemmobil und können zur Speicherung in andere Pflanzenorgane transportiert werden. Es liegt nahe zu vermuten, daß es sich auch bei den in Extrakten aus Kartoffelpflanzen nachgewiesenen Butanol-unlöslichen Cytokinininen um Cytokininglukoside handelt, die im Bedarfsfall mobilisiert, d.h. in eine biologisch wirksame Form überführt werden können. So ließe sich auch das Ergebnis von Conrad (1975) interpretieren, der 24 Stunden nach Zerschneiden von Kartoffelknollen mehr butanollösliche Cytokinine als in intakten Knollen nachweisen konnte.

Wie Nösberger (1965) zeigen konnte, steigt die Photosyntheseleistung der Kartoffelpflanze nach der Induktion an. Es ist bekannt, daß Cytokinine eine fördernde Wirkung auf die Ausbildung des photosynthetischen Apparats (Feierabend, 1970) und auf die Stärkebildung in isolierten Blättern haben (Mittelheuser and van Steveninck, 1971). Es kann daher vermutet werden, daß der Anstieg der Cytokininaktivität in den oberirdischen Sproßorganen nach Eintritt der Knolleninduktion mit dem von Nösberger (1965) beschriebenen Effekt zusammenhängt und die Photosyntheseleistung des Blattes ('Source') erhöht, um den erhöhten Assimilatbedarf der wachsenden Knolle ('Sink') zu decken.

V. Zusammenfassung

1. In Wasserkulturen mit Kartoffelpflanzen (*Solanum tuberosum* L. var. Ostara) wurde unter kontrollierten Umweltbedingungen (12 Stunden Tageslänge, Temperatur konstant Tag und Nacht 20 °C) der Einfluß von kontinuierlicher N-Ernährung = kont. N (gleichbleibendes Angebot von $\text{NO}_3\text{-N}$ über die Wurzeln) bzw. diskontinuierlicher N-Ernährung = diskont. N (ein- oder mehrmalige Unterbrechung des N-Angebots, d.h. N-Entzug für die Dauer von insgesamt 6-9 Tagen) auf den endogenen Cytokininspiegel in den verschiedenen Pflanzenorganen (Sproß, Wurzel, Stolonen bzw. Knollen) sowie im Exsudat dekapitierter Pflanzen untersucht. Die Untersuchungen erfolgten an Pflanzen im Alter von 20-40 Tagen, und zwar durch gestaffeltes Ernten im Abstand von 2-4 Tagen. Zur Bestimmung der Cytokininaktivität diente der Chlorophyllbildungstest.
2. Knolleninduktion tritt nur bei diskont. N ein, und zwar meist 6-10 Tage nach dem N-Entzug. Unter sonst gleichen Umweltbedingungen hängt der Zeitpunkt der Knolleninduktion vom physiologischen Alter der verwendeten Mutterknolle ab: bei Pflanzen aus physiologisch jungen Knollen tritt die Induktion später ein als bei solchen aus physiologisch alten Knollen. Dieser Einfluß des physiologischen Alters auf den Zeitpunkt der Knolleninduktion wurde bei der Versuchsplanung berücksichtigt.
3. Die Cytokininaktivität im Exsudat wird durch N-Entzug stark vermindert, und zwar sowohl bei induzierten als auch bei nicht-induzierten Kartoffelpflanzen. Demgegenüber steigt die Cytokininaktivität im Exsudat der kont. N Pflanzen in dem untersuchten Zeitraum an.
4. In den Wurzeln kommt es als Folge des N-Entzugs bei induzierten wie bei nicht-induzierten Pflanzen zu einem vorübergehenden Anstieg der Cytokininaktivität. Es wird vermutet, daß dies vor allem auf einem Stau der Cytokinine in den Wurzeln durch verringerte Verlagerung der Cytokinine aus den Wurzeln in den Sproß beruht. Hierfür spricht auch die gleichzeitige Verminderung der Cytokininaktivität

im Exsudat. Bei kontinuierlichem N-Angebot nimmt die Cytokininaktivität in den Wurzeln leicht ab.

5. Im Sproß nicht-induzierter Kartoffelpflanzen wird die Cytokininaktivität der Pflanzen mit diskontinuierlicher N-Versorgung während der N-Entzugsphase leicht verringert. Bei induzierten Pflanzen hingegen kommt es in der N-Entzugsphase zu einem starken Anstieg der Cytokininaktivität. Dieser Anstieg der Cytokininaktivität nach der Induktion kann so stark sein, daß in der N-Entzugsphase vorübergehend der Sproß gegenüber den Wurzeln die höhere Cytokininaktivität aufweist; bei nicht-induzierten Pflanzen besitzt stets die Wurzel die höchste Cytokininaktivität. (Dieser Anstieg beruht mit großer Wahrscheinlichkeit auf Verschiebungen des endogenen Cytokininspiegels in Richtung einer verstärkten Butanol-Löslichkeit.) Es wird angenommen, daß der starke Anstieg der Cytokininaktivität im Sproß induzierter Pflanzen während der N-Entzugsphase mit einer erhöhten Photosyntheseleistung induzierter Kartoffelpflanzen in Zusammenhang steht.
6. Während in den Stolonen der Pflanzen mit kont. N die Cytokininaktivität leicht abnimmt, steigt sie in den Stolonen bzw. jungen Knollen bei diskont. N nach der Induktion stark an. In den Stolonen und jungen Knollen kommt es bei diskont. N neben den quantitativen Veränderungen der Cytokininaktivität auch zu qualitativen Veränderungen im Cytokininspektrum. Diese qualitativen Veränderungen sind reversibel, wenn durch plötzliches hohes N-Angebot das "Durchwachsen" der jungen Knollen hervorgerufen wird.

Vermutlich stehen der Anstieg der Cytokininaktivität und die qualitativen Veränderungen des Cytokininspektrums nicht mit der Knolleninduktion, sondern mit dem Knollenwachstum in Zusammenhang. Möglicherweise sind die Cytokinine für die erhöhte Zellteilungsrate, die Zellstreckung vor allem in dorsiventraler Richtung und die "Sink"-Wirkung der jungen Knolle verantwortlich.

7. Als Ergänzung zu den Vegetationsversuchen mit unterschiedlicher N-Ernährung über die Wurzel wurden Blattapplikationsversuche mit Kinetin und Harnstoff sowie Ringelungsversuche durchgeführt, um zusätzliche Informationen über den Wirkungsmechanismus der N-Ernährung auf die Knolleninduktion zu erhalten.

Kinetinapplikation über das Blatt hat keine verzögernde Wirkung auf die Knolleninduktion, und die Knollenzahl pro Pflanze wird leicht erhöht. Auch zwischen dem N-Gehalt der Pflanzen und der Knolleninduktion ist kein Zusammenhang festzustellen: durch Harnstoffapplikation wird der Gehalt an reduziertem N vor allem der Sprosse erhöht, die Knolleninduktion bei diskont. N jedoch nicht verzögert.

Die Ringelungsversuche machen es wahrscheinlich, daß der die Knolleninduktion auslösende "Stimulus" aus dem Sproß kommt, nachdem der Sproß die Information über den jeweiligen N-Ernährungscaustand von den Wurzeln erhält. Diese Informationsübertragung müßte im Phloem erfolgen.

8. Aufgrund der eigenen Versuche und Ergebnissen aus der Literatur können folgende Schlüsse gezogen werden:
- a) Cytokinine sind bei der Knolleninduktion nicht direkt beteiligt, dagegen spielen sie beim Knollenwachstum eine entscheidende Rolle.
 - b) Bei günstigen Bedingungen für das Wurzelwachstum wird in den Wurzeln ein die Knolleninduktion verhindernder Faktor, vermutlich Gibberelline, gebildet. Dieser Faktor wird in den Sproß transportiert und hält dort die die Knolleninduktion kontrollierenden endogenen Phytohormone in einem für die Induktion ungünstigen Verhältnis. Treten für das Wurzelwachstum ungünstige Bedingungen ein (N-Entzug, Wasserstress, tiefe Temperaturen, Infektionen der Wurzel, etc.), dann sinkt die Produktion dieses Faktors in den Wurzeln ab und im Sproß stellt sich, günstige exogene Faktoren wie Tageslänge oder Temperatur vorausgesetzt, ein die Knolleninduktion begünstigendes Verhältnis der endogenen Phytohormone ein. Dieser "Stimulus" wird in die Stolone transportiert und löst dort die Knolleninduktion aus.
9. Mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie konnte mit großer Wahrscheinlichkeit Zeatin-Ribosid als Hauptbestandteil des Cytokininspektrums in *Solanum tuberosum* L var. *Ostara* identifiziert werden.

VI. Literaturverzeichnis

- ALLINGER, P. (1969): Einfluß von Wuchsstoffen auf Abbauvorgänge und Stoffwanderungen in abgeschnittenen Tropaeolum-Blättern; Diss. Hohenheim.
- ALLINGER, P. / MICHAEL, G. und MARTIN, P. (1969): Einfluß von Cytokinen und anderen Wuchsstoffen auf die Stoffverlagerung in abgeschnittenen Blättern; Flora Abt. A 160, 538-551.
- ALVIN, R. / HEWITT, D.W. and SAUNDERS, P. (1976): Seasonal variation in the hormone content of Willow. I. Changes in ABA content and Cytokinin activity in the xylem sap.; Plant Physiol. 57, 474-476.
- ANSTIS, P.J.P. and NORTHCOTE, D.H. (1975): Cytokinin activity in potato tuber extracts; Z.Pflanzenphys. 75, 273-275.
- BANKO, T.J. and BOE, A.A. (1975): Effects of pH, temperature, nutrition, Ethephon and Chormequat on endogenous Cytokinin level of *Coleus blumeri* Benth.; J.Amer.Soc.Hort.Sci. 100(2), 168-172.
- BERNHARD, N. (1901): Sur la tuberisation de la pomme de terre; C.R.Acad.Sci. Paris 132, 355-357.
- BRÄUTIGAM, E. und MÜLLER, E. (1975a): Transportprozesse in Vallisneria-blättern und die Wirkung von Kinetin und Kolchizin
I. Aufnahme von Δ -Aminobuttersäure im Gewebe von Vallisneria und die Wirkung von Kinetin; Biochem.Physiol.Pflanzen 167, 1-15.
- BRÄUTIGAM, E. und MÜLLER, E. (1975b): Transportprozesse in Vallisneria-blättern und die Wirkung von Kinetin und Kolchizin
II. Symplastischer Transport von Δ -Aminobuttersäure in Vallisneria-blättern und die Wirkung von Kinetin; Biochem.Physiol. Pflanzen 167, 17-28.
- BRÄUTIGAM, E. und MÜLLER, E. (1975c): Transportprozesse in Vallisneria-blättern und die Wirkung von Kinetin und Kolchizin
III. Induktion einer Senke durch Kinetin; Biochem.Physiol. Pflanzen 167, 29-39.
- BOOTH, A. (1963): The role of growth substances in the development of Stolones. In: The growth of the Potato; 99-113, Butterworth, London.
- BOTTOMLEY, W. / KEFFORD, N.P. / ZWAR, J.A. and GOLDBACKER, P.L. (1963): Kinetin activity from plant extracts; Austr.J.Biol.Sci. 16, 395-406.
- BURGHAUSEN, R. (1963): Düngung zu vorgekeimten Kartoffeln; A.-Thaer-Archiv 7, 43-59.
- BURT, R.L. (1964): Influence of short periods of low temperature on tuber initiation in the Potato; Eur.Potato J. 74, 197-208.
- CARLS, (1976): Untersuchungen über den Einfluß differenzierter ökologischer Bedingungen auf den Nachbauwert von Kartoffelpflanzgut beim Anbau in niederen Breiten; Diss. Technische Universität Berlin.
- CARR, D.J. and REID, D.M. (1968): The physiological significance of the synthesis of hormones in roots and of their export to the shoot system. Biochemistry and physiology of plant growth regulators. Runge Press, Ottawa, 1169-1185.

- CHAPMAN, H.M. (1968): Tuberculosis in potato plant; *Physiol.Plant.* 11, 265-266
- CHEN, H.Y. and BEEVERS (1970): Changes in endogenous growth regulators in *Nasturtium* leaves during senescence; *Planta (Berl.)* 92, 179-188
- CONRAD, K. und KÖHLER, B. (1975): Zunahme von Cytokinin und Auxin in verwundeten Speichergewebe von *Solanum Tuberosum*; *Phytochem.* 14, 325-328
- CORNFORTH, J.W., MILBORROW, B.V. and RYBACK, G. (1966): Identification and estimation of abscisic acid II ("dormin") in plant extracts by spectropolarimetry; *Nature* 210, 627-628
- COTLEY, R.A. (1960): Influence of (2-chloroethyl)trimethylammonium chloride ('Mycocel') and daylength on GA-like activity in the root exudate of the *Echinopsia euphorbia pulcherrima*, Villo cv. "Paul Mikkelsen"; *J.Amer.Soc.Hort.Sci.* 95, 120-124
- CROZIER, A. and REED, D.M. (1971): Do roots synthesize gibberellins? *Canadian J.Bot.* 49, 967-975
- DASS, H.C. and RANDESAI, G.S. (1968): Response of *Fusa* seedlings to 4-CPA, kinetin, uracil and gibberellin; *Physiol.Plant.* 21, 303-307
- DEWEE, F. and HAYES, (1961): Photoperiodism in the potato; *Techn. Jomm. Imp.Bur.Plant Breed and Genet.* 36, London Imp.Agric.Bur.
- FRANKE, W. (1961): Untersuchung zur Regulation der Stomatabewegung bei Blättern von *Vitis vinifera* L.; *Angew.Bot.* 50, 61-70
- GÖRING, H. und SCIENTA (1975): Zur Rolle der endogenen ABA bei Wassermangel in Reben; *Vitis* 14, 20-26
- EL-ANTARY, H.M.V. (1975): Redistribution of endogenous cytokinins in geotropically stimulated *Ribes nigrum* roots and shoots; *Z.Pflanzen Physiol.* 76, 411-422
- ENGELBRECHT, L. (1967): Beiträge zum Problem der Akkumulation von Aminosäuren in Blattzellen; *Flora* 150, 73-86
- FRANKE, W. (1966): Assimilate im Licht und im Dunkeln bei *Vicia faba*; *Planta (Berl.)* 70, 90-104
- FRANKE, W. (1967): Characterization of cytokinin action on enzyme formation during the development of the photo-synthetic apparatus in *Vicia* seedlings; *Planta (Berl.)* 94, 1-15
- FRANKE, W. and SCHMIDT, H. (1971): Cytokinin-induced chlorophyll formation in cucumber cotyledons; *Planta (Berl.)* 101, 88-90
- GOLDRACH, E., GOLDRACH, H., WAGNER, H. and MICHAEL, G. (1975): Influence of ABA deficiency on ABA content of sunflower plants; *Physiol. Plant.* 34, 138-140
- KRISHNAN, L.V. (1961): Phytohormones and nitrogen deficiency in paddy; *Madras Agric.J.* 30, 47-48
- KRISHNAN, L.V. (1970): Some factors controlling tuber formation in the potato plant; *Ann. Entom. Soc. Calif.* Los Angeles

- GREGORY, L.E. (1956): Some factors for tuberisation in the potato plant; Amer.J.Botany 42, 281-288
- HAMMES, P.S. (1971): Tuber initiation in the potato; Agroplantane 2, 73-74
- HAMMES, P.S. and BEYERS, E.A. (1973): Localization of the photoperiodic perception in potatoes; Potato Res. 16, 68-72
- HAMMES, P.S. and NEL, P.C. (1975): Control mechanisms in the tuberization process; Potato Res. 18, 262-272
- HARDY, S.L. / CASTELFRANCO, P.A. and REBEIZ, D.A. (1970): Effect of the hypocotyl hook on the greening in etiolated Cucumber cotyledons; Plant Physiol. 46, 705-707
- HARDY, S.L. /CASTELFRANCO, P.A. and REBEIZ, C.A. (1971): Effect of the hypocotyl hook on chlorophyll accumulation in exised cotyledons of Cucumis sativus L.; Plant Physiol. 47, 705-708
- HEADFORD, D.W.R. (1962): Sprout development and subsequent plant growth; Eur.Potato J. 5, 14-22
- HEIDE, O.M. and SKOOG, F. (1967): Cytokinin activity in Begonia and Bryophyllum; Physiol.Plynt. 20, 771-780
- HEMBERG, T. and WESTLIN, E. (1973): The qualitative yield in purification of cytokinins. Model-experiments with kinetin, 6-Furfuryl-aminopurine; Physiol.Plant. 28, 228-231
- HEWETT, E. and WAREING, P.F. (1973 a): Cytokinins in Populus robusta (Schneid): changes during chilling and bud burst; Plantarum 22, 393-399
- HEWETT, E.W. and WAREING, P.F. (1973 b): Cytokinins in Populus robusta (Schneid): light effects on endogenous levels; Planta (Berl) 114, 119-129
- HOAD, G.V. and BOWEN, M.R. (1968): Evidence for gibberellin-like substances in phloem exudate of higher plants; Planta 82, 22-32
- HOSHIMOTO, T. (1961): Synergistic effect of IAA and kinetin on the primary thickening of pea stem segments; Bot.Mag.(Tokyo) 74, 110-117
- HOUGHTALING, H.B. (1935): A developmental analysis of size and shape in tomato fruits; Bull.Torrey Bot.Club. 62, 243-252
- IRITANI, W.H. (1968): Factors affecting physiological aging (degeneration) of potato tubers used as seed; Am.Potato J. 45, 111-116
- JACOB, F. / STROBEL, U. / ENGELBRECHT, L. and SCHULZ, W. (1975): Studien an Cuscuta reflexa Rox. B. III zur Frage einer Cytokininabhängigen Nährstoffaufnahme; Biochem.Physiol.Pflanzen (BPP) 168, 349-359
- KANNANGARA, T. and BOOTH, A. (1974): Diffusible Cytokinins in shoot apices of Dahlia variabilis; J.Exp.Bot. 25, 459-467
- KENDE, H. (1965): Kinetin-like factors in the root of sunflowers; Proc. Nat.Acad.Sci. (USA) 53, 1302-1307
- KIRKHAM, M.B. / KEENEY, D.R. and GARNER, W.R. (1974): Uptake of water and labelled nitrate at different depth in the root zone of potato plants grown on a sandy soil; Agr.Ecosystems 1, 31-44

- KRANE, J. und MARSCHNER, H. (1974): Einfluss der N-Ernährung der Kartoffel auf Induktion und Wachstumsrate der Knolle; Z. Pflanzener. Bodenk. 128, 153-166
- KRANE, J. und MARSCHNER, H. (1974): Einfluss des Calcium-Angebots auf Wachstumsrate und Calcium-Gehalt von Kartoffelknollen; Z. Pflanzener. Bodenk. 128, 317-326
- KRANE, J. und MARSCHNER, H. (1976): Einfluss von N-Ernährung und Wachstoffsapplikation auf die Knolleninduktion bei Kartoffelpflanzen; Z. Pflanzener. Bodenk. 141, 143-165
- KLASNA, O.M. (1961): The effect of roots on leave metabolism in relation to the action of kinetin on leaves; Soviet Plant. Physiol. Engl. transl. 9, 182-186
- LANGILLE, J.R. and FONSELME, P.L. (1974): Influence of temperature and photoperiod on cytokinin pools in the potato, *Solanum tuberosum* L.; Plant Science Letters 2 (74), 189-191
- LEOPOLD, A.C. (1964): Rubber and bulb formation. Plant growth and development; Ch. 18, McGraw-Hill, New York
- LETHBR, D.S. (1963): Bantin, a factor inducing cell division isolated from sea hays; Life Sci. 2, 569-573
- LETHBR, D.S. (1974): Regulators of cell division in plant tissues; Planta 125, 561-564
- LETHBR, D.S. and WILLIAMS, M.W. (1969): Regulators of cell division in plant tissue. VIII The cytokinin of the apple fruit; Physiol. Plant. 22, 325-336
- LINDER, A. (1964): Statistische Methoden, IV. Aufl., Basel
- LOEWYER, J.E. and VAN OVERBERG, C. (1964): Kinin activity in coconut milk. In "Régulateurs Naturels de la Croissance végétale", 77-82, Colloques Internationaux du Centre National de la Recherche Scientifique
- MICHAEL, G., ALLENBERG, P. und WILBERG, E. (1970): Einige Aspekte zur hormonellen Regulation der Korngröße bei Getreide; Z. Pflanzener. Bodenk. 125, 1-14-15
- MICHAEL, G., MOUNEL, M.A.H. and GOLDBACH, H. (1974): Nitrogen fertilizer application, hormone activity and crop production. Proceeding of the 7th Inter. Coll. Hannover
- MILLER, J.C. (1961): A kinetin-like compound in maize; Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 47, 170-174
- MILLER, J.C., SAKO, F., ORTNER, F.S. and STRONG, F.M. (1959): Auxin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid; J. Am. Chem. Soc. 81, 1302
- MILLER, J.C., SAKO, F., ORTNER, F.S., SALTER, M.H. and STRONG, F.M. (1959): Isolation, structure, and synthesis of kinetin, a substance promoting cell division; J. Am. Chem. Soc. 81, 1375
- MILNEPOPE, F.L. (1963): Tagungsbericht Dtsch. Akad. Landw. 48 11 - 00
- MILNEPOPE, F.L. and VAN OVERBERG, C. (1971): The ultra-structure of wheat leaves. II The effect of Kinetin and ABA on detached leaves incubated in the light; Protoplasma 71, 253-259

- MOTHES, K. (1932): Ernährung, Struktur und Transpiration. Ein Beitrag zur kausalen Analyse der Xeromorphosen; Biolog.Zentralblatt 4, 193-223
- MOTHES, K. (1960): Über das Altern der Blätter und die Möglichkeit ihrer Wiederverjüngung; Naturwiss. 47, 337-351
- MOTHES, K. (1966): Zur Problematik der Phytokininwirkung; Biol.Rundschau 41, 211-224
- MOTHES, K. / ENGELBRECHT, L. und KULAJEWA, O. (1959): Über die Wirkung des Kinetins auf Stickstoffverteilung und Eiweißsynthese in isolierten Blättern; Flora 147, 445-464
- MOTHES, K. and ENGELBRECHT, L. (1961): Kinetin-induced directed transport of substances in excised leaves in the dark; Phytochem. 1, 58-62
- MOTHES, K. and ENGELBRECHT, L. (1963): On the activity of a kinetin-like root factor; Live.Sci. 2, 852-857
- NAQVI, M.S. (1975): Kinetics of Auxin transport in light and in dark grown Zea mays L. coleoptile segments; Z.Pfl.Phys. 76, 379-383
- NÜSBERGER, J. and HUMPHRIES, E.C. (1965): The influence of removing tubers on drymatter production and net assimilation rate of potato plants; Ann.Bot. 29, 579-588
- OKAZAWA, Y. (1960): Studies on the relation between the tuber formation of potato and its natural gibberellin content; J.Crop.Sci.Soc. Japan 29, 121-124
- OKAZAWA, Y. (1967): Physiological studies on the tuberization of potato plants; J.Fac.Agr.Hokkaido Univ. Sapporo Vol. 55
- OKAZAWA, Y. (1969): Physiological significance of endogenous cytokinins occurrence in potato tubers during their developmental period; Proc.Crop.Sci.Soc. Japan 39, 171-175
- OKAZAWA, Y. and CHAPMAN, H.W. (1962): Regulation of tuber formation in the potato plant; Physiol.Plant. 15, 413-419
- PALMER, C.E. and BARKER, W.G. (1972): Changes in enzyme activity during elongation and tuberization of stolons of Solanum tuberosum L. cultured in vitro; Plant and Cell Physiol. 13, 681-688
- PALMER, C.E. and SMITH, O.E. (1969): Effect of ARA on elongation and kinetin-induced tuberisation of isolated stolons of Solanum tuberosum; Plant and Cell Physiol. 10, 657-664
- PALMER, C.E. and SMITH, O.E. (1969): Cytokinins and tuber initiation in the potato Solanum tuberosum L.; Nature 221, 279-280
- PARKER, C.W. and LETHAM, D.S. (1973): Regulators of cell division in plant tissues. XVI. Metabolism of Zeatin by radish cotyledons and hypocotyls; Planta 114, 199-218
- PLAISTED, P.H. (1957): Growth of the potato tuber; Plant Physiol. 58, 445-453
- PONT LEZICA, R.F. (1970): Evolution des substances de type gibberellinés chez la pomme de terre pendant la tuberisation, en relation avec la longueur du jour et la température; Potato Res. 13, 323-331

- PUROHIT, A.N. (1970): Photoperiodic control of synthesis of substances influencing the tuber and root formation in the potato; Pot. Res. 13, 131-141
- RAILTON, J. and WAREING, P.F. (1963): Effects of daylength on endogenous GA in leaves of *Solanum antigena*. I. Changes in levels of free acetic gibberellin-like substances; Physiol.Plant. 28, 88-94
- RAILTON, J.D. and WAREING, P.F. (1973): Effect of daylength on endogenous gibberellins in *Solanum antigena*. III. Gibberellin production by the leaves; Physiol.Plant. 29, 430-433
- RAJAGOPAL, V. and RAO, J.M. (1972): Growth response to exogenous application of IAA and GA to tomato plants under nitrogen stress; India J.Plant.Physiol. 15, 95-102
- RAJAGOPAL, V. and RAO, J.M. (1974): Changes in the endogenous levels of Auxin and gibberellin-like substances in the shoot apices of nitrogen-deficient tomato plants; Aust.J.Bot. 22, 429-435
- REID, D.M. and BURROWS (1968): Cytokinin and gibberellin-like activity in spring sap of trees; Experientia (Basel) 24, 189-190
- REID, D.M. and CROZIER, A. (1971): The effect of waterlogging on the gibberellin content and growth of tomato plants; J.Exp.Bot. 22, 39-48
- RICHMOND, A. and LANG, A. (1957): Effect of kinetin on protein content and survival of detached leaves; Science 125, 650-651
- SATTELMACHER, B. (1973): Der Chlorophyllbildungstest, eine schnelle Nachweisreaktion für Cytokinine; Diplomarbeit Freie Universität Berlin
- SIMPSON, K. (1962): Effects of soil-moisture tension and fertilizers on the yield, growth and phosphorous uptake of potatoes; J.Sci.Food Agric. 13, 236-262
- SITTON, D. / ITAI, C. and KENDE, H. (1967): Decreased cytokinin production in the roots as a factor in shoot senescence; Planta (Berl.) 73, 296-300
- SITTON, D.A. / RICHMOND and VAADIA (1967): On the synthesis of gibberellins in roots; Phytochem. 6, 1101-1105
- SKENE, K.M.G. (1967): Gibberellin-like substances in root exudate of *Vitis vinifera*; Planta 74, 250-262
- SKENE, K.M.G. (1972): Cytokinin in the xylem sap of grape vine canes: changes in activity during cold storage; Planta 104, 89-92
- SKOOG, F. and MILLER, C.O. (1957): Biological action of growth substances; Cambridge Univ.Press. Cambridge, 200
- SKOOG, F. and ARMSTRONG, D.J. (1970): Cytokinin annual rev.; Plant. Physiol. 21
- SLATER, J.W. (1968): The effect of night temperature on tuber initiation of the potato; Eur.Potato J. 11, 14-22
- SMITH, O.E. and PALMER, C.E. (1970): Cytokinin-induced tuber formation on stolons of *Solanum tuberosum*; Physiol.Plant. 23, 599-606

- SMITH, O.E. and RAPPAPORT, C. (1969): Gibberellins, inhibitors, and tuber formation in the potato, *Solanum tuberosum* L.; *Am. Potato J.* 46, 185-191
- VAN STADEN, J. (1973): An evaluation of the technique used for extracting endogenous cytokinins from plant material; *J.S.Afr.Bot.* 39, 261-267
- VAN STADEN, J. (1976 a): Occurrence of a cytokinin glucoside in the leaves and in honeydew of *Salix babylonica*; *Physiol.Plant.* 36, 225-228
- VAN STADEN, J. (1976 b): The identification of Zeatin glucoside from coconut milk; *Physiol.Plant.* 36, 123-126
- VAN STADEN, J. and DREWES, S.E. (1974): Identification of cell division inducing compounds from coconut milk; *Physiol.Plant.* 32, 347-352
- STALLKNECHT, G.F. (1972): Coumarin-induced tuber formation on excised shoots of *Solanum tuberosum* L. cultured in vitro; *Plant.Physiol.* 50, 412-413
- TAGAWA, T. and OKAZAWA, Y. (1953): Physiological and morphological studies on potato plants. XIII. On the variation of respiration rate by the developmental stages of the tuber formation of potato plants; *Memo.Facul.Agric. Hokkaido Univ.* 410-426
- THOMAS, T.H. / CAROLL, J.E. / ISENBERG, F.M.R. / PENDERGRASS, A. and HOWEL, L. (1974): Separation of cytokinins from Danish cabbage by column chromatography on insoluble polyvinylpyrrolidone; *Physiol.Plant.* 33, 83-86
- THOMAS, T.H. / CAROLL, J.E. and ISENBERG, E.M.R. (1975): Thin-layer chromatography of cytokinins on a mixed layer of polyvinylpyrrolidone and calcium sulfate; *J.Chromato.* 103, 211-215
- TIZIO, R. and BIAIN, M.M. (1973): Are cytokinins the specific factors for tuber formation in the potato plant?; *Internal J. of Exp. Bot.* 31, 3-13
- TOOSEY, R.D. (1964): The pre-sprouting of seed potatoes: Factors affecting sprout growth and subsequent yield. I. Field Crop Abstracts, 17
- VOLLMER, W. (1976): Der Cytokiningehalt in den vegetativen Organen der Rebe; *Diss. Hohenheim*
- WAGNER, H. (1970): Einfluß von unterschiedlicher Ernährung auf die Cytokininbildung in der Pflanzenwurzel; *Diss. Hohenheim*
- WAGNER, H. und MICHAEL, G. (1969): Cytokinin-Bildung in Wurzeln von Sonnenblumen bei unterschiedlicher Stickstoffernährung und Chloramphenicol-Zusatz; *Naturwiss.* 56, 379
- WAGNER, H. und MICHAEL, G. (1971): Einfluß unterschiedlicher Stickstoffversorgung auf die Cytokininbildung in den Wurzeln von Sonnenblumenpflanzen; *Biochem.Physiol. Pflanzen (BPP)* 162, 147-158
- WAITZ, G. (1975): Untersuchungen zur Physiologie der Beerenreife: der Cytokiningehalt wachsender Weinbeeren; *Diss. Hohenheim*

- WEAVER, R.J. / SHINDY, W. and KLEWER, W.M. (1969): Growth regulator induced movement of photosynthetic products into fruits of "Black Corinth" grapes; *Plant. Physiol.* 44, 183-188
- WEISS, Ch. and VAADIA, Y. (1965): Kinetin-like activity in root apices of sunflower plants; *Live Sci.* 4, 1323-1326
- WENT, F.W. (1957): The experimental control of plant growth; *Chronica Bot.* 12, 109-112
- WITT, J. (1965): The influence of nitrogen deficiency on the auxin content of *Helianthus annuus*; *Chemical Abstracts* 63, 15460-15461
- WRIGHT, S.T.C. (1975): Seasonal changes in the levels of free and bound ABA in Blackcurrant (*Ribes nigrum*) and Bead (*Fagus sylvatica*) buds; *J. Experimental Bot.* 26, 161-174
- ZIMMERMAN, P.W. and HITCHCOCK, A.E. (1963): The localization of the mechanism which regulates tuberization in plants; *Amer. J. Bot.* 23, 690

Lebenslauf

6. August 1947	geboren in Kiel
1955/58	Grundschule in Kiel
1958/60	Grundschule in Berlin
1960/69	Oberschule (Naturwissenschaftliches Gymnasium)
	Abschluß: Abitur
SS 1969	Immatrikulation an der Freien Universität Berlin für Biologie
SS 1971	Diplomvorprüfung
SS 1973	Diplomhauptprüfung
1.8.73 - 1976	Arbeit als Wissenschaftlicher Mitarbeiter von Prof. Dr. H. Marschner an meiner Doktorarbeit

Diese Arbeit entstand auf Anregung von Herrn Professor Dr. H. Marschner. Ihm sei an dieser Stelle für seine jederzeit gewährte Unterstützung und seine wertvollen Ratschläge bei der Planung der Versuche und der Diskussion der Ergebnisse herzlich gedankt.

Ebenso möchte ich allen Mitarbeitern des Instituts für Pflanzenernährung für ihre Hilfsbereitschaft meinen Dank aussprechen. Mein Dank gilt ebenfalls Herrn Dr. Krauß für seine nützlichen kritischen Ratschläge.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die finanzielle Unterstützung.

difo-druck · 8600 bamberg
untere königstraße 30